

特許協力条約

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 2621WOOP	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/04277	国際出願日 (日.月.年) 29.06.00	優先日 (日.月.年) 30.06.99
国際特許分類 (IPC) Int.C1' C07K7/23, C07K1/22		
出願人（氏名又は名称） 武田薬品工業株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条（PCT36条）の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で <u>3</u> ページからなる。
<input type="checkbox"/> この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関に対して訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面も添付されている。 (PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照) この附属書類は、全部で _____ ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
<ul style="list-style-type: none"> I <input checked="" type="checkbox"/> 国際予備審査報告の基礎 II <input type="checkbox"/> 優先権 III <input type="checkbox"/> 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成 IV <input type="checkbox"/> 発明の単一性の欠如 V <input checked="" type="checkbox"/> PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明 VI <input type="checkbox"/> ある種の引用文献 VII <input type="checkbox"/> 国際出願の不備 VIII <input type="checkbox"/> 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 14.09.00	国際予備審査報告を作成した日 27.04.01
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官（権限のある職員） 鈴木 恵理子 電話番号 03-3581-1101 内線 3488
	4N 8114 印



I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。（法第6条（PCT14条）の規定に基づく命令に応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。PCT規則70.16, 70.17）

 出願時の国際出願書類

<input type="checkbox"/> 明細書 第 _____	ページ、	出願時に提出されたもの
明細書 第 _____	ページ、	国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____	ページ、	付の書簡と共に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 請求の範囲 第 _____	項、	出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____	項、	PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____	項、	国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____	項、	付の書簡と共に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 図面 第 _____	ページ/図、	出願時に提出されたもの
図面 第 _____	ページ/図、	国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____	ページ/図、	付の書簡と共に提出されたもの
<input type="checkbox"/> 明細書の配列表の部分 第 _____	ページ、	出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____	ページ、	国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____	ページ、	付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
- PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
- 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- この国際出願に含まれる書面による配列表
- この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
- 出願後に、この国際予備審査（または調査）機関に提出された書面による配列表
- 出願後に、この国際予備審査（または調査）機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
- 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
- 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- 明細書 第 _____ ページ
- 請求の範囲 第 _____ 項
- 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかつたものとして作成した。（PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。）



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条 (PCT35条(2)) に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲 1-15
請求の範囲 16, 17有
無

進歩性 (IS)

請求の範囲 1-15
請求の範囲 16, 17有
無

産業上の利用可能性 (IA)

請求の範囲 1-17
請求の範囲有
無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

請求の範囲 16, 17について

国際調査報告で引用した文献1 (EP, 910575, A1 (TAKEDA CHEM LTD) 28. 4月. 1999 (28. 04. 99)) の実施例4においては、精製リュープロレリンの塩の含量が99.8%であることが記載されており、請求の範囲 16, 17の発明は、上記文献1に記載されており、請求の範囲 16, 17の発明には、新規性がない。

請求の範囲 1-15について

国際調査報告で引用した文献1及び文献2、3 (US, 3816386, A (AB BOTT LAB) 11. 6月. 1974 (11. 06. 74)、US, 4966851, A (UNIV OF BRIT COLUMB) 30. 10月. 1990 (30. 10. 90)) には、請求の範囲 1-15に記載の製造方法については、記載も示唆もない。したがって、請求の範囲 1-15の発明は、新規性と進歩性を有する。



PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION (PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing: 11 January 2001 (11.01.01)
International application No.: PCT/JP00/04277
International filing date: 29 June 2000 (29.06.00)
Applicant: SASAKI, Yasuhiro et al

Applicant's or agent's file reference:

2621WO0P

Priority date:

30 June 1999 (30.06.99)

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

in the demand filed with the International preliminary Examining Authority on:

14 September 2000 (14.09.00)

in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer: J. Zahra Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 2621WOOP	FOR FURTHER ACTION	See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/JP00/04277	International filing date (day/month/year) 29 June 2000 (29.06.00)	Priority date (day/month/year) 30 June 1999 (30.06.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07K 7/23, 1/22		
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of <u>3</u> sheets, including this cover sheet.
<input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of _____ sheets.
3. This report contains indications relating to the following items:
<input checked="" type="checkbox"/> I Basis of the report <input type="checkbox"/> II Priority <input type="checkbox"/> III Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability <input type="checkbox"/> IV Lack of unity of invention <input checked="" type="checkbox"/> V Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement <input type="checkbox"/> VI Certain documents cited <input type="checkbox"/> VII Certain defects in the international application <input type="checkbox"/> VIII Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 14 September 2000 (14.09.00)	Date of completion of this report 27 April 2001 (27.04.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/04277

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

 the international application as originally filed the description:

pages _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the claims:

pages _____, as originally filed

pages _____, as amended (together with any statement under Article 19)

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the drawings:

pages _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

 the sequence listing part of the description:

pages _____, as originally filed

pages _____, filed with the demand

pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

 the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)). the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)). the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

 contained in the international application in written form. filed together with the international application in computer readable form. furnished subsequently to this Authority in written form. furnished subsequently to this Authority in computer readable form. The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished. The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.4. The amendments have resulted in the cancellation of: the description, pages _____ the claims, Nos. _____ the drawings, sheets/fig. _____5. This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/JP 00/04277

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-15	YES
	Claims	16, 17	NO
Inventive step (IS)	Claims	1-15	YES
	Claims	16, 17	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-17	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Claims 16-17

Document 1 cited in the international search report (EP, 910575, A1 (Takeda Chem. Ind., Ltd.), 28 April 1999 (28.04.99)), Example 4, discloses a pure leuprorelin salt with a content of 99.8%. Therefore, the inventions described in Claims 16 and 17 are disclosed in Document 1 and the inventions described in Claims 16 and 17 are not novel.

Claims 1-15

Neither Document 1 nor Document 2 or 3 cited in the international search report (US, 3816386, A (Abbot Lab.), 11 June 1974 (11.06.74) and US, 4966851, A (Univ. of British Columbia), 30 October 1990 (30.10.90)) discloses or suggests a production process described in Claims 1-15. Therefore, the inventions described in Claims 1-15 are novel and involve an inventive step.

PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

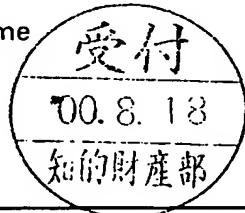
PCT

NOTIFICATION OF RECEIPT OF
RECORD COPY

(PCT Rule 24.2(a))

To:

TAKAHASHI, Shuichi
 Osaka Plant of Takeda Chemical
 Industries, Ltd.
 17-85, Jusohonmachi 2-chome
 Yodogawa-ku
 Osaka-shi
 Osaka 532-0024
 JAPON



Date of mailing (day/month/year) 03 August 2000 (03.08.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 2621WOOP	International application No. PCT/JP00/04277

The applicant is hereby notified that the International Bureau has received the record copy of the international application as detailed below.

Name(s) of the applicant(s) and State(s) for which they are applicants:

TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. (for all designated States except US)
 SASAKI, Yasuhiro et al (for US)

International filing date : 29 June 2000 (29.06.00)
 Priority date(s) claimed : 30 June 1999 (30.06.99)
 Date of receipt of the record copy by the International Bureau : 14 July 2000 (14.07.00)
 List of designated Offices :

AP :GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW
 EA :AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM
 EP :AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE
 OA :BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG
 National :AE,AG,AL,AM,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CN,CR,CU,CZ,DM,DZ,EE,GD,GE,HR,HU,
 ID,IL,IN,IS,JP,KG,KR,KZ,LC,LK,LR,LT,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MX,MZ,NO,NZ,PL,RO,RU,SG,SI,
 SK,TJ,TM,TR,TT,UA,US,UZ,VN,YU,ZA

ATTENTION:

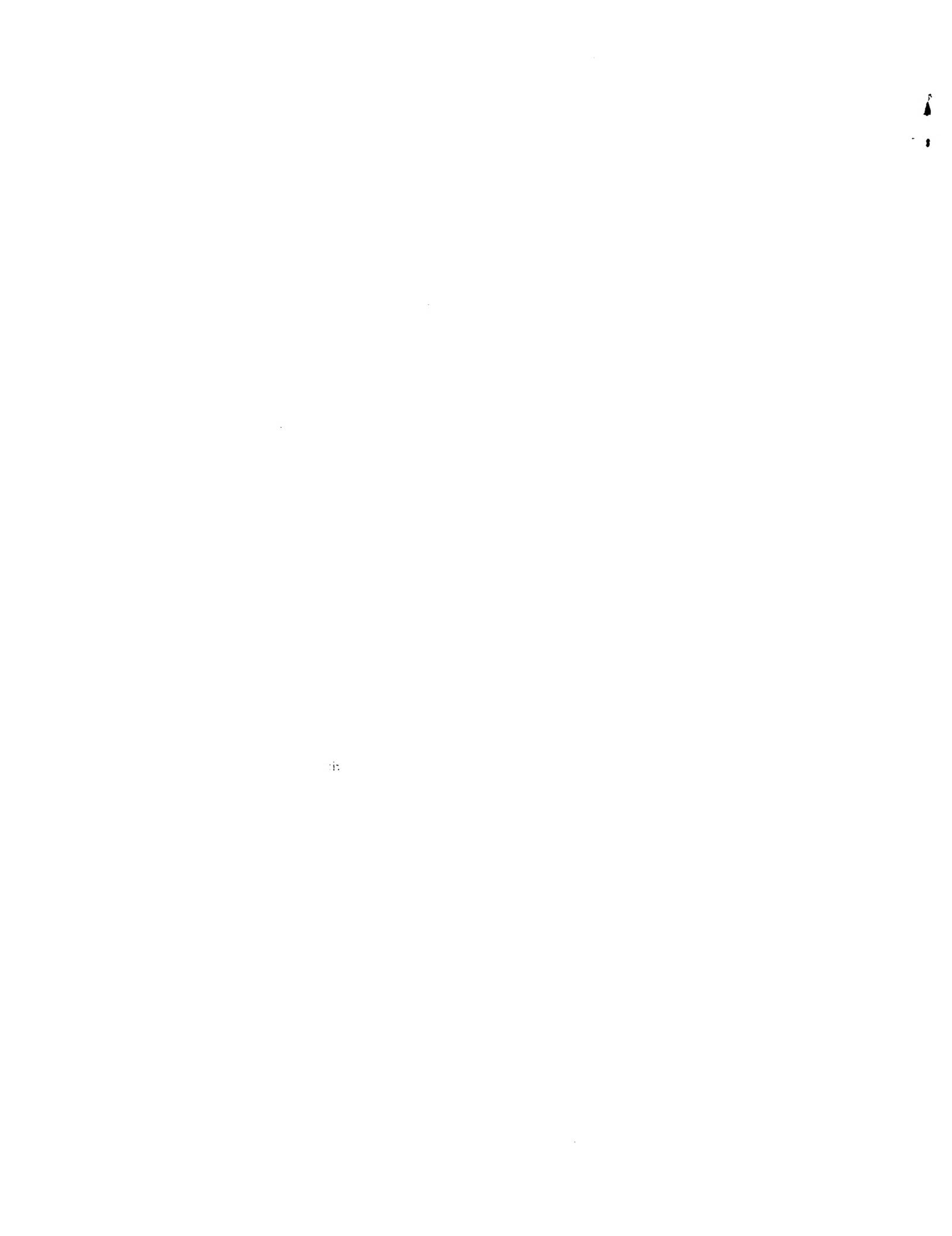
The applicant should carefully check the data appearing in this Notification. In case of any discrepancy between these data and the indications in the international application, the applicant should immediately inform the International Bureau.

In addition, the applicant's attention is drawn to the information contained in the Annex, relating to:

- time limits for entry into the national phase
- confirmation of precautionary designations
- requirements regarding priority documents

A copy of this Notification is being sent to the receiving Office and to the International Searching Authority.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer: Masashi HONDA Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	---



INFORMATION ON TIME LIMITS FOR ENTERING THE NATIONAL PHASE

The applicant is reminded that the "national phase" must be entered before each of the designated Offices indicated in the Notification of Receipt of Record Copy (Form PCT/IB/301) by paying national fees and furnishing translations, as prescribed by the applicable national laws.

The time limit for performing these procedural acts is 20 MONTHS from the priority date or, for those designated States which the applicant elects in a demand for international preliminary examination or in a later election, 30 MONTHS from the priority date, provided that the election is made before the expiration of 19 months from the priority date. Some designated (or elected) Offices have fixed time limits which expire even later than 20 or 30 months from the priority date. In other Offices an extension of time or grace period, in some cases upon payment of an additional fee, is available.

In addition to these procedural acts, the applicant may also have to comply with other special requirements applicable in certain Offices. It is the applicant's responsibility to ensure that the necessary steps to enter the national phase are taken in a timely fashion. Most designated Offices do not issue reminders to applicants in connection with the entry into the national phase.

For detailed information about the procedural acts to be performed to enter the national phase before each designated Office, the applicable time limits and possible extensions of time or grace periods, and any other requirements, see the relevant Chapters of Volume II of the PCT Applicant's Guide. Information about the requirements for filing a demand for international preliminary examination is set out in Chapter IX of Volume I of the PCT Applicant's Guide.

GR and ES became bound by PCT Chapter II on 7 September 1996 and 6 September 1997, respectively, and may, therefore, be elected in a demand or a later election filed on or after 7 September 1996 and 6 September 1997, respectively, regardless of the filing date of the international application. (See second paragraph above.)

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

CONFIRMATION OF PRECAUTIONARY DESIGNATIONS

This notification lists only specific designations made under Rule 4.9(a) in the request. It is important to check that these designations are correct. Errors in designations can be corrected where precautionary designations have been made under Rule 4.9(b). The applicant is hereby reminded that any precautionary designations may be confirmed according to Rule 4.9(c) before the expiration of 15 months from the priority date. If it is not confirmed, it will automatically be regarded as withdrawn by the applicant. There will be no reminder and no invitation. Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying the designated State concerned (with an indication of the kind of protection or treatment desired) and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.

REQUIREMENTS REGARDING PRIORITY DOCUMENTS

For applicants who have not yet complied with the requirements regarding priority documents, the following is recalled.

Where the priority of an earlier national, regional or international application is claimed, the applicant must submit a copy of the said earlier application, certified by the authority with which it was filed ("the priority document") to the receiving Office (which will transmit it to the International Bureau) or directly to the International Bureau, before the expiration of 16 months from the priority date, provided that any such priority document may still be submitted to the International Bureau before that date of international publication of the international application, in which case that document will be considered to have been received by the International Bureau on the last day of the 16-month time limit (Rule 17.1(a)).

Where the priority document is issued by the receiving Office, the applicant may, instead of submitting the priority document, request the receiving Office to prepare and transmit the priority document to the International Bureau. Such request must be made before the expiration of the 16-month time limit and may be subjected by the receiving Office to the payment of a fee (Rule 17.1(b)).

If the priority document concerned is not submitted to the International Bureau or if the request to the receiving Office to prepare and transmit the priority document has not been made (and the corresponding fee, if any, paid) within the applicable time limit indicated under the preceding paragraphs, any designated State may disregard the priority claim, provided that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

Where several priorities are claimed, the priority date to be considered for the purposes of computing the 16-month time limit is the filing date of the earliest application whose priority is claimed.



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/04277

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ C07K7/23, C07K1/22

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ C07K7/23, C07K1/14-1/22

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
BIOSIS (DIALOG)
CA (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	EP, 910575, A1 (TAKEDA CHEM IND LTD), 28 April, 1999 (28.04.99) & AU, 9731899, A & WO, 97/48726, A1 & JP, 10-67797, A	16, 17 1-15
A	US, 3816386, A (ABBOTT LAB), 11 June, 1974 (11.06.74) & DE, 2331095, A & GB, 1402349, A & FR, 2189418, A & JP, 49-49962, A	1-17
A	US, 4966851, A (UNIV OF BRIT COLUMB), 30 October, 1990 (30.10.90) & CA, 1283072, C & JP, 63-233787, A	1-17

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

- * Special categories of cited documents:
- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
10 October, 2000 (10.10.00)

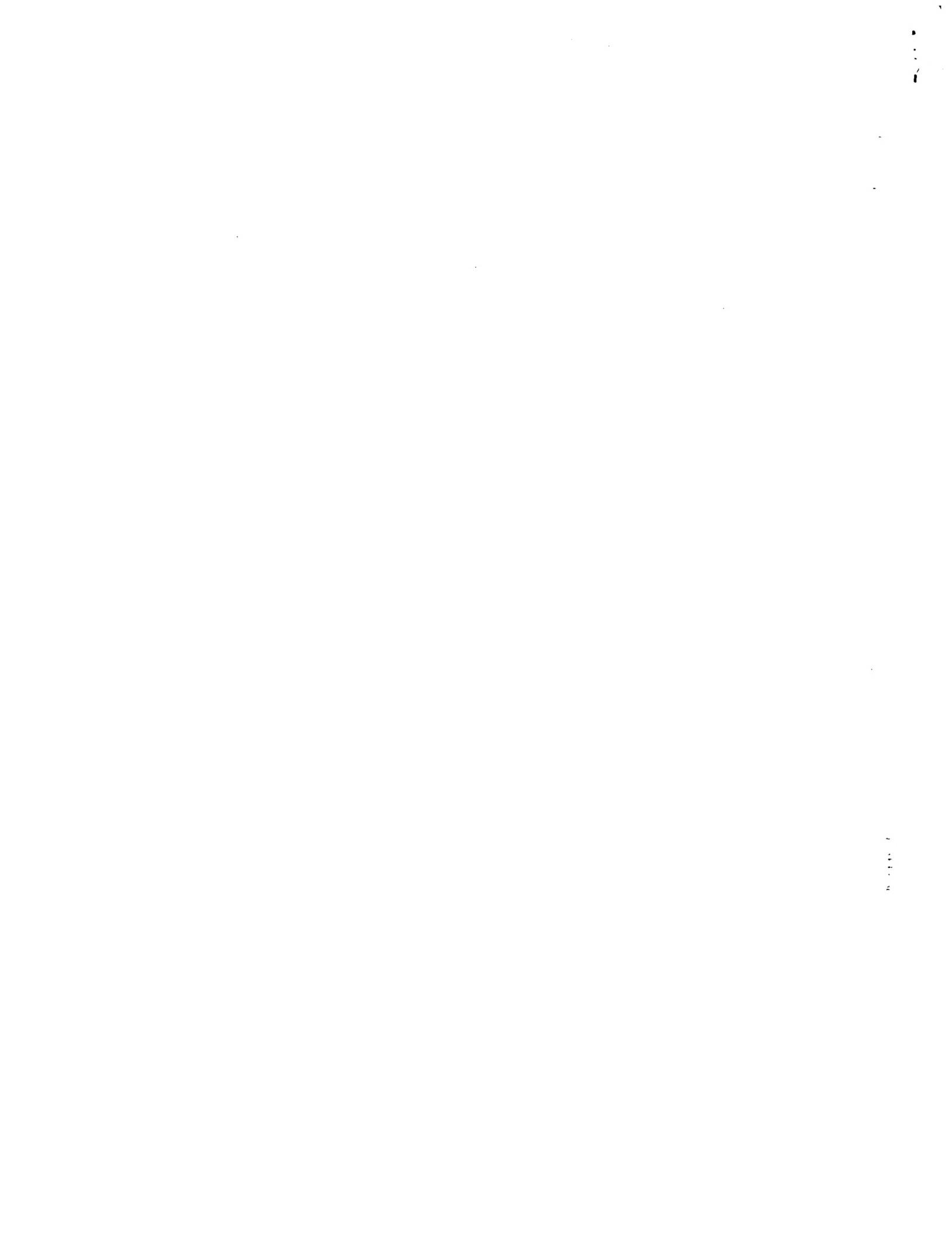
Date of mailing of the international search report
24 October, 2000 (24.10.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



特許協力条約に基づく国際出願

願書

出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。

受理官庁記入欄

国際出願番号

国際出願日

(受付印)

出願人又は代理人の書類記号
(希望する場合、最大12字)

2621WOOP

第I欄 発明の名称

LH-RH誘導体の製造法

第II欄 出願人

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

武田薬品工業株式会社

TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.

〒541-0045 日本国大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号
1-1, Doshomachi 4-chome, Chuo-ku, Osaka-shi,
OSAKA 541-0045 JAPANこの欄に記載した者は、発明者である。

電話番号:

ファクシミリ番号:

加入電信番号:

国籍(国名): 日本国 Japan

住所(国名): 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である: すべての指定国 米国を除くすべての指定国 米国のみ 追記欄に記載した指定国

第III欄 その他の出願人又は発明者

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

佐々木康弘 SASAKI Yasuhiro

〒743-0012 日本国山口県光市千坊台3丁目9番8号
9-8, Senboudai 3-chome, Hikari-shi, YAMAGUCHI 743-0012 JAPANこの欄に記載した者は、
次に該当する:出願人のみである。出願人及び発明者である。発明者のみである。
(ここにレ印を付したときは、
以下に記入しないこと)

国籍(国名): 日本国 Japan

住所(国名): 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である: すべての指定国 米国を除くすべての指定国 米国のみ 追記欄に記載した指定国その他の出願人又は発明者が統葉に記載されている。

第IV欄 代理人又は共通の代表者、通知のあて名

次に記載された者は、国際機関において出願人のために行動する:

代理人共通の代表者

氏名(名称)及びあて名: (姓・名の順に記載; 法人は公式の完全な名称を記載; あて名は郵便番号及び国名も記載)

11404 弁理士 高橋秀一 TAKAHASHI Shuichi

〒532-0024 日本国大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号
武田薬品工業株式会社大阪工場内c/o Osaka Plant of TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.
17-85, Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi,
OSAKA 532-0024 JAPAN

電話番号:

03-3278-2235

ファクシミリ番号:

03-3278-2222

加入電信番号:

通知のためのあて名: 代理人又は共通の代表者が選任されておらず、上記枠内に特に通知が送付されるあて名を記載している場合は、レ印を付す



第III欄の続き その他の出願人又は発明者

この統葉を使用しないときは、この用紙を顎書に含めないこと。

氏名（名称）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）

清水勝治 SHIMIZU Katsuji
〒745-0501 日本国山口県熊毛郡熊毛町八代821-3
821-3, Yashiro, Kumage-cho, Kumage-gun, YAMAGUCHI 745-0501
JAPAN

この欄に記載した者は、
次に該当する： 出願人のみである。 出願人及び発明者である。 発明者のみである。
(にこにレ印を付したときは、
以下に記入しないこと)

国籍（国名）： 日本国 Japan

住所（国名）： 日本国 Japan

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である： すべての指定国 米国を除くすべての指定国 米国のみ 追記欄に記載した指定国

氏名（名称）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）

この欄に記載した者は、
次に該当する： 出願人のみである。 出願人及び発明者である。 発明者のみである。
(にこにレ印を付したときは、
以下に記入しないこと)

国籍（国名）：

住所（国名）：

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である： すべての指定国 米国を除くすべての指定国 米国のみ 追記欄に記載した指定国

氏名（名称）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）

この欄に記載した者は、
次に該当する： 出願人のみである。 出願人及び発明者である。 発明者のみである。
(にこにレ印を付したときは、
以下に記入しないこと)

国籍（国名）：

住所（国名）：

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である： すべての指定国 米国を除くすべての指定国 米国のみ 追記欄に記載した指定国

氏名（名称）及びあて名：（姓・名の順に記載；法人は公式の完全な名称を記載；あて名は郵便番号及び国名も記載）

この欄に記載した者は、
次に該当する： 出願人のみである。 出願人及び発明者である。 発明者のみである。
(にこにレ印を付したときは、
以下に記入しないこと)

国籍（国名）：

住所（国名）：

この欄に記載した者は、次の
指定国についての出願人である： すべての指定国 米国を除くすべての指定国 米国のみ 追記欄に記載した指定国 その他の出願人又は発明者が他の統葉に記載されている。



第V欄 国の指定

規則4.9(a)の規定に基づき次の指定を行う（該当する□に印を付すこと：少なくとも1つの□に印を付すこと）。

広域特許

AP ARIPO特許：GH ガーナ Ghana, GM ガンビア Gambia, KE ケニア Kenya, LS レソト Lesotho, MW マラウイ Malawi, SD スーダン Sudan, SL シエラ・レオーネ Sierra Leone, SZ スワジランド Swaziland, TZ タンザニア United Republic of Tanzania, UG ウガンダ Uganda, ZW ジンバブエ Zimbabwe, 及びハラレプロトコルと特許協力条約の締約国である他の国

EA ヨーラシア特許：AM アルメニア Armenia, AZ アゼルバイジャン Azerbaijan, BY ベラルーシ Belarus, KG キルギス Kyrgyzstan, KZ カザフスタン Kazakhstan, MD モルドヴァ Republic of Moldova, RU ロシア Russian Federation, TJ タジキスタン Tajikistan, TM トルクメニスタン Turkmenistan, 及びヨーラシア特許条約と特許協力条約の締約国である他の国

EP ヨーロッパ特許：AT オーストリア Austria, BE ベルギー Belgium, CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein, CY キプロス Cyprus, DE ドイツ Germany, DK デンマーク Denmark, ES スペイン Spain, FI フィンランド Finland, FR フランス France, GB 英国 United Kingdom, GR ギリシャ Greece, IE アイルランド Ireland, IT イタリア Italy, LU ルクセンブルグ Luxembourg, MC モナコ Monaco, NL オランダ Netherlands, PT ポルトガル Portugal, SE スウェーデン Sweden, 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国である他の国

OA OAPI特許：BF ブルキナ・ファソ Burkina Faso, BJ ベナン Benin, CF 中央アフリカ Central African Republic, CG コンゴ Congo, CI コートジボアール Côte d'Ivoire, CM カメルーン Cameroon, GA ガボン Gabon, GN ギニア Guinea, GW ギニア・ビサオ Guinea-Bissau, ML マリ Mali, MR モーリタニア Mauritania, NE ニジェール Niger, SN セネガル Senegal, TD チャード Chad, TG トーゴー Togo, 及びアフリカ知的所有権機構のメンバー国と特許協力条約の締約国である他の国（他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線上に記載する）

国内特許（他の種類の保護又は取扱いを求める場合には点線上に記載する）

<input checked="" type="checkbox"/> AE アラブ首長国連邦 United Arab Emirates	<input type="checkbox"/> LU ルクセンブルグ Luxembourg
<input checked="" type="checkbox"/> AL アルバニア Albania	<input checked="" type="checkbox"/> LV ラトヴィア Latvia
<input checked="" type="checkbox"/> AM アルメニア Armenia	<input checked="" type="checkbox"/> MA モロッコ Morocco
<input type="checkbox"/> AT オーストリア Austria	<input checked="" type="checkbox"/> MD モルドヴァ Republic of Moldova
<input checked="" type="checkbox"/> AU オーストラリア Australia	<input checked="" type="checkbox"/> MG マダガスカル Madagascar
<input checked="" type="checkbox"/> AZ アゼルバイジャン Azerbaijan	<input checked="" type="checkbox"/> MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア共和国 The former Yugoslav Republic of Macedonia
<input checked="" type="checkbox"/> BA ボスニア・ヘルツェゴビナ Bosnia and Herzegovina	<input checked="" type="checkbox"/> MN モンゴル Mongolia
<input checked="" type="checkbox"/> BB バルバドス Barbados	<input type="checkbox"/> MW マラウイ Malawi
<input checked="" type="checkbox"/> BG ブルガリア Bulgaria	<input checked="" type="checkbox"/> MX メキシコ Mexico
<input checked="" type="checkbox"/> BR ブラジル Brazil	<input checked="" type="checkbox"/> NO ノルウェー Norway
<input checked="" type="checkbox"/> BY ベラルーシ Belarus	<input checked="" type="checkbox"/> NZ ニュー・ジーランド New Zealand
<input checked="" type="checkbox"/> CA カナダ Canada	<input checked="" type="checkbox"/> PL ポーランド Poland
<input type="checkbox"/> CH and LI スイス及びリヒテンシュタイン Switzerland and Liechtenstein	<input checked="" type="checkbox"/> PT ポルトガル Portugal
<input checked="" type="checkbox"/> CN 中国 China	<input checked="" type="checkbox"/> RO ルーマニア Romania
<input checked="" type="checkbox"/> CR コスタリカ Costa Rica	<input checked="" type="checkbox"/> RU ロシア Russian Federation
<input checked="" type="checkbox"/> CU キューバ Cuba	<input type="checkbox"/> SD スーダン Sudan
<input checked="" type="checkbox"/> CZ チェコ Czech Republic	<input checked="" type="checkbox"/> SE スウェーデン Sweden
<input type="checkbox"/> DE ドイツ Germany	<input checked="" type="checkbox"/> SG シンガポール Singapore
<input type="checkbox"/> DK デンマーク Denmark	<input checked="" type="checkbox"/> SI スロヴェニア Slovenia
<input checked="" type="checkbox"/> DM ドミニカ Dominica	<input checked="" type="checkbox"/> SK スロバキア Slovakia
<input checked="" type="checkbox"/> EE エストニア Estonia	<input checked="" type="checkbox"/> SL シエラ・レオーネ Sierra Leone
<input type="checkbox"/> ES スペイン Spain	<input checked="" type="checkbox"/> TJ タジキスタン Tajikistan
<input type="checkbox"/> FI フィンランド Finland	<input checked="" type="checkbox"/> TM トルクメニスタン Turkmenistan
<input type="checkbox"/> GB 英国 United Kingdom	<input checked="" type="checkbox"/> TR トルコ Turkey
<input type="checkbox"/> GD グレナダ Grenada	<input checked="" type="checkbox"/> TT トリニダッド・トバゴ Trinidad and Tobago
<input type="checkbox"/> GE グルジア Georgia	<input checked="" type="checkbox"/> TZ タンザニア United Republic of Tanzania
<input type="checkbox"/> GH ガーナ Ghana	<input checked="" type="checkbox"/> UA ウクライナ Ukraine
<input type="checkbox"/> GM ガンビア Gambia	<input checked="" type="checkbox"/> UG ウガンダ Uganda
<input checked="" type="checkbox"/> HR クロアチア Croatia	<input checked="" type="checkbox"/> US 米国 United States of America
<input checked="" type="checkbox"/> HU ハンガリー Hungary	<input checked="" type="checkbox"/> UZ ウズベキスタン Uzbekistan
<input checked="" type="checkbox"/> ID インドネシア Indonesia	<input checked="" type="checkbox"/> VN ヴィエトナム Viet Nam
<input checked="" type="checkbox"/> IL イスラエル Israel	<input checked="" type="checkbox"/> YU ユーゴースラヴィア Yugoslavia
<input checked="" type="checkbox"/> IN インド India	<input checked="" type="checkbox"/> ZA 南アフリカ共和国 South Africa
<input checked="" type="checkbox"/> IS アイスランド Iceland	<input checked="" type="checkbox"/> ZW ジンバブエ Zimbabwe
<input checked="" type="checkbox"/> JP 日本 Japan	
<input checked="" type="checkbox"/> KE ケニア Kenya	
<input checked="" type="checkbox"/> KG キルギス Kyrgyzstan	
<input type="checkbox"/> KP 北朝鮮 Democratic People's Republic of Korea	
<input checked="" type="checkbox"/> KR 韓国 Republic of Korea	
<input checked="" type="checkbox"/> KZ カザフスタン Kazakhstan	
<input checked="" type="checkbox"/> LC セント・ルシア Saint Lucia	
<input checked="" type="checkbox"/> LK スリ・ランカ Sri Lanka	
<input checked="" type="checkbox"/> LR リベリア Liberia	
<input type="checkbox"/> LS レソト Lesotho	
<input checked="" type="checkbox"/> LT リトアニア Lithuania	

以下の□は、この様式の施行後に特許協力条約の締約国となった国を指定（国内特許のために）するためのものである

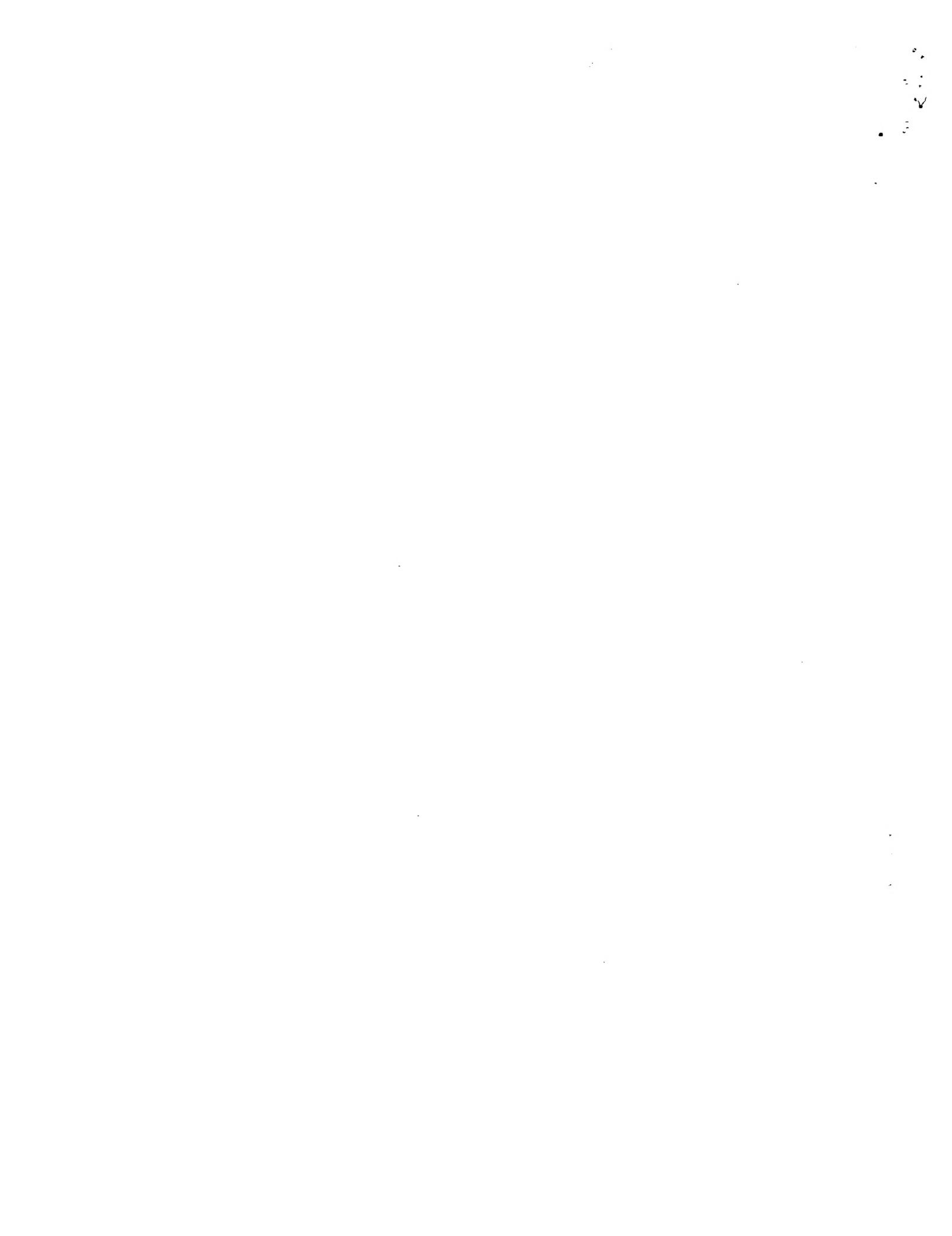
DZ アルジェリア Democratic People's Republic of Algeria

AG アンティグア・バーブーダ Antigua and Barbuda

MZ モザンビーク Mozambique

BZ ベリーズ Belize

確認の宣言：出願人は、上記の指定に加えて、規則4.9(b)の規定に基づき、特許協力条約の下で認められる他の全ての国の指定を行う。ただし、この宣言から除く旨の表示を追記欄にした国は、指定から除かれる。出願人は、これらの追加される指定が確認を条件としていること、並びに優先日から15月が経過する前にその確認がなされない指定は、この期間の経過時に、出願人によって取り下げられたものとみなされることを宣言する。（指定の確認（料金を含む）は、優先日から15月以内に受理官庁へ提出しなければならない。）



・追記欄

この追記欄を使用しないときは、この欄に出願書に含めないこと。

1. 全ての情報を該当する欄の中に記載できないとき。

この場合は、「第何欄.....の続き」(欄番号を表示する)と表示し、記載できない欄の指示と同じ方法で情報を記載する。特に、

(i) 出願人又は発明者として3人以上いる場合で、「続葉」を使用できないとき。

この場合は、「第Ⅲ欄の続き」と表示し、第Ⅲ欄で求められている同じ情報を、それぞれの者について記載する。

(ii) 第Ⅱ欄又は第Ⅲ欄の枠の中で、「追記欄に記載した指定国」にレ印を付しいるとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」、「第Ⅲ欄の続き」又は「第Ⅱ欄及び第Ⅲ欄の続き」と記載し、該当する出願人の氏名(名称)を表示し、それぞれの氏名(名称)の次にその者が出願人となる指定国(広域特許の場合には、ARIPO特許・ユーラシア特許・ヨーロッパ特許・OAPI特許)を記載する。

(iii) 第Ⅱ欄又は第Ⅲ欄の枠の中で、発明者又は発明者及び出願人である者が、すべての指定国のために又は米国のために発明者ではないとき。

この場合は、「第Ⅱ欄の続き」、「第Ⅲ欄の続き」又は「第Ⅱ欄及び第Ⅲ欄の続き」と記載し、該当する発明者の氏名を表示し、その者が発明者である指定国(広域特許の場合には、ARIPO特許・ユーラシア特許・ヨーロッパ特許・OAPI特許)を記載する。

(iv) 第Ⅳ欄に示す代理人以外に代理人がいるとき。

この場合は、「第Ⅳ欄の続き」と表示し、第Ⅳ欄で求められている同じ情報を、それぞれの代理人について記載する。

(v) 第Ⅴ欄において指定国又はOAPI特許が、「追加特許」又は「追加証」を伴うとき、又は、米国が「継続」又は「一部継続」を伴うとき。

この場合は、「第Ⅴ欄の続き」及び該当するそれぞれの指定国又はOAPI特許を表示し、それぞれの指定国又はOAPI特許の後に、原特許又は原出願の番号及び特許付与日又は原出願日を記載する。

(vi) 第Ⅵ欄において優先権を主張する先の出願が4件以上あるとき。

この場合は、「第Ⅵ欄の続き」と表示し、第Ⅵ欄で求められている同じ情報を、それぞれの先の出願について記載する。

(vii) 第Ⅵ欄において先の出願がARIPOの特許出願であるとき。

この場合は、「第Ⅵ欄の続き」と表示し、その先の出願に対応する項目の番号を特定して、更に、その先の出願を行った工業所有権の保護のためのパリ条約同盟国の中なくとも1ヶ国を表示する。

2. 出願人が、第Ⅴ欄における確認の指定の宣言に関し、その宣言からいはずれかの国を除くことを希望するとき。

この場合は、「確認の指定の宣言から、以下の指定国を除く」と記載し、除かれる国名又は2文字の国コードを表示する。

3. 出願人が、指定官庁について不利にならない開示又は新規性喪失についての例外に関する国内法の適用を請求するとき。

この場合は、「不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する陳述」と表示し、以下にその内容を記述する。

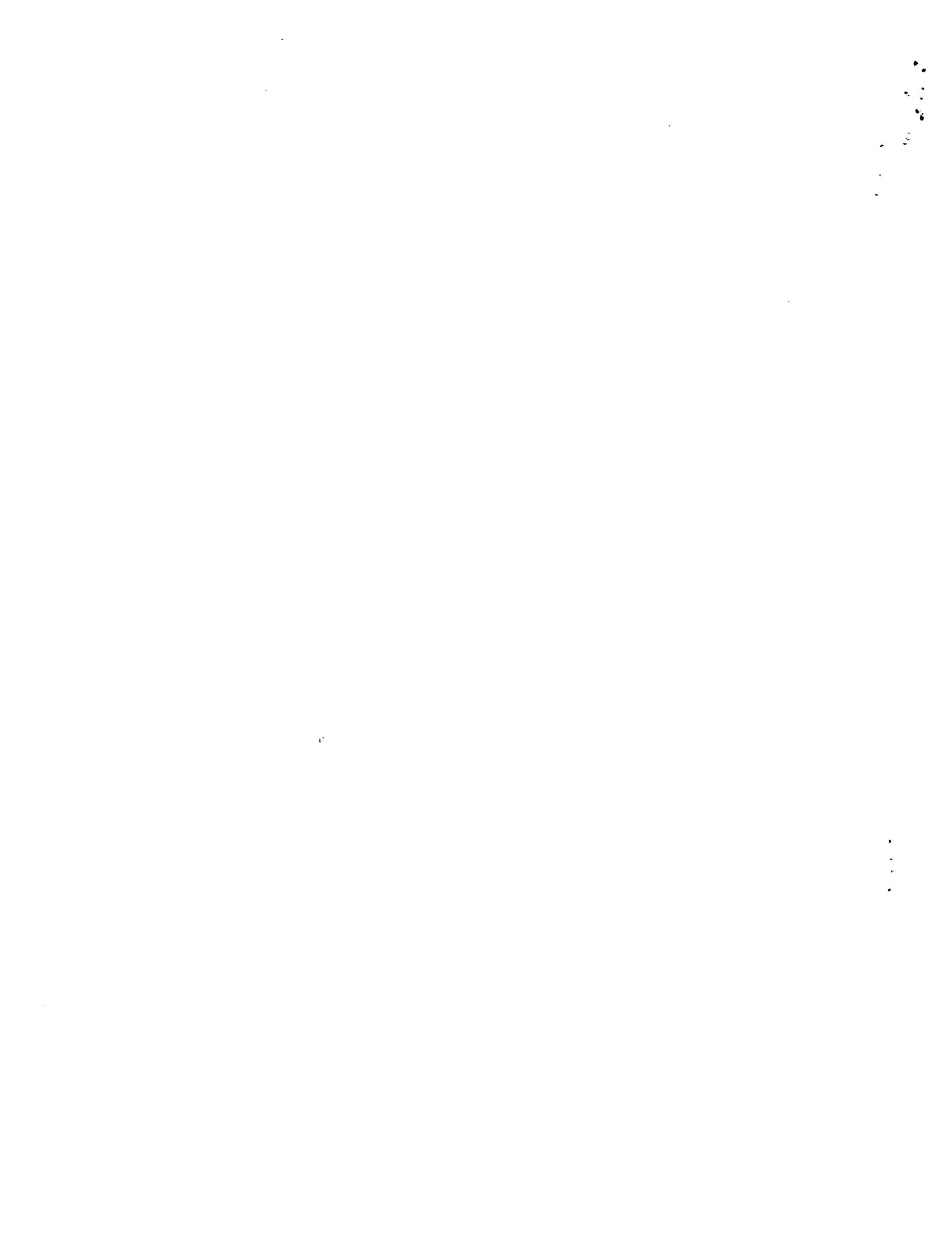
「第Ⅳ欄の続き」

11045 弁理士 内山 務 UCHIYAMA Tsutomu

〒532-0024 日本国大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号

武田薬品工業株式会社大阪工場内

c/o Osaka Plant of TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.
17-85, Jusohonmachi 2-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi,
OSAKA 532-0024 JAPAN



第VI欄 優先権主張		□ ① 優先権の主張(先の出願)が追記欄に記載されている		
先の出願日 (日、月、年)	先の出願番号	先の出願		
		国内出願：国名	広域出願：*広域官庁名	国際出願：受理官庁名
(1) 30. 06. 99	平成11年特許願 第186307号	日本国 Japan		
(2)				
(3)				

上記()の番号の先の出願(ただし、本国際出願が提出される受理官庁に対して提出されたものに限る)のうち、次の()の番号のものについては、出願書類の認証原本を作成し国際事務局へ送付することを、受理官庁(日本国特許庁の長官)に対して請求している。(1)

*先の出願が、ARIPOの特許出願である場合には、その先の出願を行った工業所有権の保護のためのパリ条約同盟国の少なくとも1ヶ国を追記欄に表示しなければならない(規則4.10(b)(ii))。追記欄を参照。

第VII欄 國際調査機関

国際調査機関 (ISA) の選択	先の調査結果の利用請求；当該調査の照会 (先の調査が、国際調査機関によって既に実施又は請求されている場合)		
ISA/JP	出願日 (日、月、年)	出願番号	国名 (又は広域官庁)

第VIII欄 照合欄；出願の言語

この国際出願の用紙の枚数は次のとおりである。	この国際出願には、以下にチェックした書類が添付されている。																											
<table border="1"> <tbody> <tr> <td>願書</td> <td>5 枚</td> <td><input checked="" type="checkbox"/> 1. 手数料計算用紙</td> <td><input type="checkbox"/> 5. 優先権書類 (上記第VI欄の()の番号を記載する):</td> </tr> <tr> <td>明細書(配列表を除く)</td> <td>32 枚</td> <td><input type="checkbox"/> 2. 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面</td> <td><input type="checkbox"/> 6. 国際出願の翻訳文(翻訳に使用した言語名を記載する):</td> </tr> <tr> <td>請求の範囲</td> <td>3 枚</td> <td><input type="checkbox"/> 3. 国際事務局の口座への振込みを証明する書面</td> <td><input type="checkbox"/> 7. 寄託した微生物又は他の生物材料に関する書面</td> </tr> <tr> <td>要約書</td> <td>1 枚</td> <td><input checked="" type="checkbox"/> 4. 別個の記名押印された委任状</td> <td><input type="checkbox"/> 8. スクレオチド及び/又はアミノ酸配列表(フレキシブルディスク)</td> </tr> <tr> <td>図面</td> <td>0 枚</td> <td><input checked="" type="checkbox"/> 5. 包括委任状の写し</td> <td><input type="checkbox"/> 9. その他 (書類名を詳細に記載する)</td> </tr> <tr> <td>明細書の配列表</td> <td>0 枚</td> <td><input type="checkbox"/> 6. 記名押印(署名)の説明書</td> <td></td> </tr> <tr> <td>合計</td> <td>41 枚</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	願書	5 枚	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 手数料計算用紙	<input type="checkbox"/> 5. 優先権書類 (上記第VI欄の()の番号を記載する):	明細書(配列表を除く)	32 枚	<input type="checkbox"/> 2. 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面	<input type="checkbox"/> 6. 国際出願の翻訳文(翻訳に使用した言語名を記載する):	請求の範囲	3 枚	<input type="checkbox"/> 3. 国際事務局の口座への振込みを証明する書面	<input type="checkbox"/> 7. 寄託した微生物又は他の生物材料に関する書面	要約書	1 枚	<input checked="" type="checkbox"/> 4. 別個の記名押印された委任状	<input type="checkbox"/> 8. スクレオチド及び/又はアミノ酸配列表(フレキシブルディスク)	図面	0 枚	<input checked="" type="checkbox"/> 5. 包括委任状の写し	<input type="checkbox"/> 9. その他 (書類名を詳細に記載する)	明細書の配列表	0 枚	<input type="checkbox"/> 6. 記名押印(署名)の説明書		合計	41 枚		
願書	5 枚	<input checked="" type="checkbox"/> 1. 手数料計算用紙	<input type="checkbox"/> 5. 優先権書類 (上記第VI欄の()の番号を記載する):																									
明細書(配列表を除く)	32 枚	<input type="checkbox"/> 2. 納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面	<input type="checkbox"/> 6. 国際出願の翻訳文(翻訳に使用した言語名を記載する):																									
請求の範囲	3 枚	<input type="checkbox"/> 3. 国際事務局の口座への振込みを証明する書面	<input type="checkbox"/> 7. 寄託した微生物又は他の生物材料に関する書面																									
要約書	1 枚	<input checked="" type="checkbox"/> 4. 別個の記名押印された委任状	<input type="checkbox"/> 8. スクレオチド及び/又はアミノ酸配列表(フレキシブルディスク)																									
図面	0 枚	<input checked="" type="checkbox"/> 5. 包括委任状の写し	<input type="checkbox"/> 9. その他 (書類名を詳細に記載する)																									
明細書の配列表	0 枚	<input type="checkbox"/> 6. 記名押印(署名)の説明書																										
合計	41 枚																											

要約書とともに提示する 図面：

本国際出願の使用言語名： 日本語

第IX欄 提出者の記名押印

「人の氏名(名稱)を記載し、その次に押印する。

高橋 秀一



内山 務

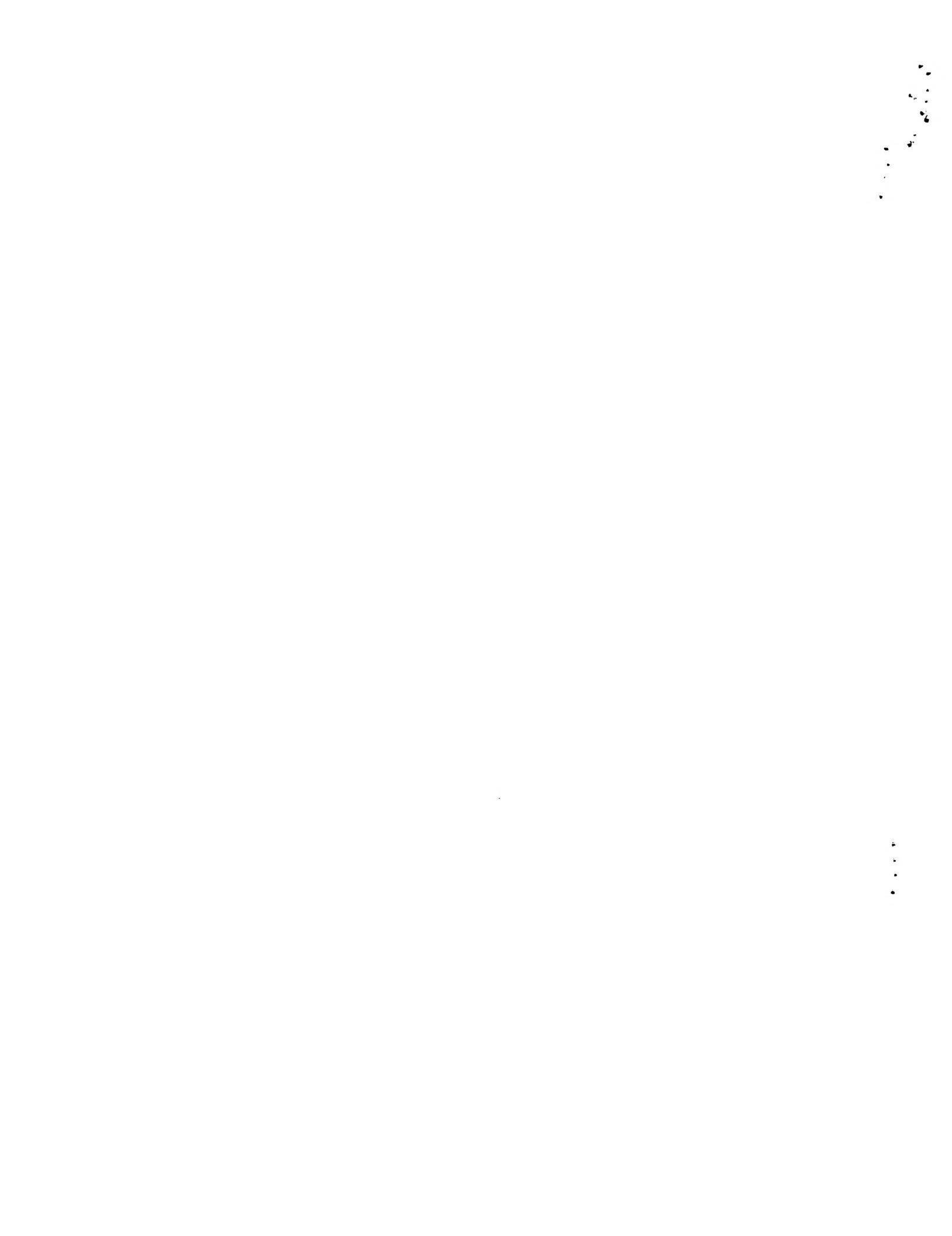


受理官庁記入欄		
1. 国際出願として提出された書類の実際の受理の日		
3. 国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であってその後期間内に提出されたものの実際の受理の日(訂正日)		
4. 特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日		
5. 出願人により特定された 国際調査機関		ISA / JP
6. <input type="checkbox"/> 調査手数料未払いにつき、国際調査機関に調査用写しを送付していない		
2. 図面		
<input type="checkbox"/> 受理された <input type="checkbox"/> 不足図面がある		

国際事務局記入欄

記録原本の受理の日

様式PCT/RO/101 (最終用紙) (1998年7月:再版2000年1月)



PATENT COOPERATION TREATY

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

NOTIFICATION CONCERNING
SUBMISSION OR TRANSMITTAL
OF PRIORITY DOCUMENT

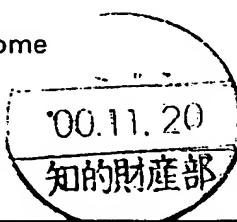
(PCT Administrative Instructions, Section 411)

Date of mailing (day/month/year)

07 November 2000 (07.11.00)

To:

TAKAHASHI, Shuichi
 Osaka Plant of Takeda Chemical
 Industries, Ltd.
 17-85, Jusohonmachi 2-chome
 Yodogawa-ku
 Osaka-shi
 Osaka 532-0024
 JAPON



Applicant's or agent's file reference

2621WOOP

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.

PCT/JP00/04277

International filing date (day/month/year)

29 June 2000 (29.06.00)

International publication date (day/month/year)

Not yet published

Priority date (day/month/year)

30 June 1999 (30.06.99)

Applicant

TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al

1. The applicant is hereby notified of the date of receipt (except where the letters "NR" appear in the right-hand column) by the International Bureau of the priority document(s) relating to the earlier application(s) indicated below. Unless otherwise indicated by an asterisk appearing next to a date of receipt, or by the letters "NR", in the right-hand column, the priority document concerned was submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b).
2. This updates and replaces any previously issued notification concerning submission or transmittal of priority documents.
3. An asterisk(*) appearing next to a date of receipt, in the right-hand column, denotes a priority document submitted or transmitted to the International Bureau but not in compliance with Rule 17.1(a) or (b). In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.
4. The letters "NR" appearing in the right-hand column denote a priority document which was not received by the International Bureau or which the applicant did not request the receiving Office to prepare and transmit to the International Bureau, as provided by Rule 17.1(a) or (b), respectively. In such a case, the attention of the applicant is directed to Rule 17.1(c) which provides that no designated Office may disregard the priority claim concerned before giving the applicant an opportunity, upon entry into the national phase, to furnish the priority document within a time limit which is reasonable under the circumstances.

<u>Priority date</u>	<u>Priority application No.</u>	<u>Country or regional Office or PCT receiving Office</u>	<u>Date of receipt of priority document</u>
30 June 1999 (30.06.99)	11/186307	JP	18 Augu 2000 (18.08.00)

The International Bureau of WIPO
 34, chemin des Colombettes
 1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No. (41-22) 740.14.35

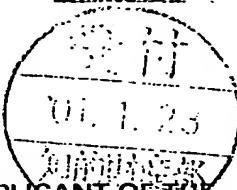
Authorized officer

Tessadel PAMPLIEGA

Telephone No. (41-22) 338.83.38

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TAKAHASHI, Shuichi
Osaka Plant of Takeda Chemical
Industries, Ltd.
17-85, Jusohonmachi 2-chome
Yodogawa-ku
Osaka-shi
Osaka 532-0024
JAPON

Date of mailing (day/month/year)
11 January 2001 (11.01.01)

Applicant's or agent's file reference
2621WOOP

IMPORTANT NOTICE

International application No.	International filing date (day/month/year)	Priority date (day/month/year)
PCT/JP00/04277	29 June 2000 (29.06.00)	30 June 1999 (30.06.99)
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al		

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:

AG,AU,BZ,DZ,KR,MZ,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

AE,AL,AM,AP,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,CA,CN,CR,CU,CZ,DM,EA,EE,EP,GD,GE,HR,HU,ID,IL,IN,IS,
JP,KG,KZ,LC,LK,LR,LT,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MX,NO,NZ,OA,PL,RO,RU,SG,SI,SK,TJ,TM,TR,TT,
UA,UZ,VN,YU,ZA

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on
11 January 2001 (11.01.01) under No. WO 01/02428

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer J. Zahra Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	---

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INFORMATION CONCERNING ELECTED
OFFICES NOTIFIED OF THEIR ELECTION

(PCT Rule 61.3)



From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

TAKAHASHI, Shuichi
 Osaka Plant of Takeda Chemical
 Industries, Ltd.
 17-85, Jusohonmachi 2-chome
 Yodogawa-ku
 Osaka-shi
 Osaka 532-0024
 JAPON

Date of mailing (day/month/year) 11 January 2001 (11.01.01)
--

Applicant's or agent's file reference 2621WOOP	IMPORTANT INFORMATION	
International application No. PCT/JP00/04277	International filing date (day/month/year) 29 June 2000 (29.06.00)	Priority date (day/month/year) 30 June 1999 (30.06.99)
Applicant TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD. et al		

1. The applicant is hereby informed that the International Bureau has, according to Article 31(7), notified each of the following Offices of its election:

AP :GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZW
 EP :AT,BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE
 National :AG,AU,BG,BZ,CA,CN,CZ,DZ,IL,JP,KR,MN,MZ,NO,NZ,PL,RO,RU,SK,US

2. The following Offices have waived the requirement for the notification of their election; the notification will be sent to them by the International Bureau only upon their request:

EA :AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM
 OA :BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG
 National :AE,AL,AM,AZ,BA,BB,BR,BY,CR,CU,DM,EE,GD,GE,HR,HU,ID,IN,IS,KG,KZ,
 LC,LK,LR,LT,LV,MA,MD,MG,MK,MX,SG,SI,TJ,TM,TR,TT,UA,UZ,VN,YU,ZA

3. The applicant is reminded that he must enter the "national phase" before the expiration of 30 months from the priority date before each of the Offices listed above. This must be done by paying the national fee(s) and furnishing, if prescribed, a translation of the international application (Article 39(1)(a)), as well as, where applicable, by furnishing a translation of any annexes of the international preliminary examination report (Article 36(3)(b) and Rule 74.1).

Some offices have fixed time limits expiring later than the above-mentioned time limit. For detailed information about the applicable time limits and the acts to be performed upon entry into the national phase before a particular Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The entry into the European regional phase is postponed until 31 months from the priority date for all States designated for the purposes of obtaining a European patent.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer: J. Zahra Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	--

国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
 [PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 2621WOOP	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/04277	国際出願日 (日.月.年) 29.06.00	優先日 (日.月.年) 30.06.99
出願人 (氏名又は名称) 武田薬品工業株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条 (PCT18条) の規定に従い出願人に送付する。この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。
 この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、スクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。
 この国際出願に含まれる書面による配列表

この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. 請求の範囲の一部の調査ができない (第I欄参照)。

3. 発明の単一性が欠如している (第II欄参照)。

4. 発明の名称は 出願人が提出したものと承認する。

次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は 出願人が提出したものと承認する。

第III欄に示されているように、法施行規則第47条 (PCT規則38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 出願人が示したとおりである。

なし

出願人は図を示さなかった。

本図は発明の特徴を一層よく表している。



A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. C1' C07K7/32, C07K1/22

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. C1' C07K7/32, C07K1/14~1/22

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS (DIALOG)

CA (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EP, 910575, A1 (TAKEDA CHEM IND LTD) 28日. 4	16, 17
A	月. 1999 (28. 04. 99) & AU, 9731899, A& WO, 97/48726, A1&JP, 10-67797, A	1-15
A	US, 3816386, A (ABBOTT LAB) 11日. 6月. 1974 (11. 06. 74) & DE, 2331095, A&GB, 140 2349, A&FR, 2189418, A&JP, 49-4996 2, A	1-17
A	US, 4966851, A (UNIV OF BRIT COLUMB) 30日. 10 月. 1990 (30. 10. 90) & CA, 1283072, C& JP, 63-233787, A	1-17

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 10. 10. 00	国際調査報告の発送日 24.10.00
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 鈴木 恵理子 電話番号 03-3581-1101 内線 3448 4N 8114



(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2001年1月11日 (11.01.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/02428 A1

(51) 国際特許分類: C07K 7/32, 1/22 (74) 代理人: 弁理士 高橋秀一, 外(TAKAHASHI, Shuichi et al.); 〒532-0024 大阪府大阪市淀川区十三本町2丁目17番85号 武田薬品工業株式会社 大阪工場内 Osaka (JP).

(21) 国際出願番号: PCT/JP00/04277 (81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CN, CR, CU, CZ, DM, DZ, EE, GD, GE, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LT, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MX, MZ, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ZA.

(22) 国際出願日: 2000年6月29日 (29.06.2000) (84) 指定国(広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ:
特願平11/186307 1999年6月30日 (30.06.1999) JP

(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 武田薬品工業株式会社 (TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.) [JP/JP]; 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号 Osaka (JP).

(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 佐々木康弘 (SASAKI, Yasuhiro) [JP/JP]; 〒743-0012 山口県光市千坊台3丁目9番8号 Yamaguchi (JP). 清水勝治 (SHIMIZU, Katsuji) [JP/JP]; 〒745-0501 山口県熊毛郡熊毛町八代 821-3 Yamaguchi (JP).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

WO 01/02428 A1

(54) Title: PROCESS FOR THE PREPARATION OF LH-RH DERIVATIVES

(54) 発明の名称: LH-RH誘導体の製造法

(57) Abstract: A process for the preparation of LH-RH derivatives, characterized by subjecting a solution of an LH-RH derivative to both treatment with a synthetic methacrylic resin adsorbent and that with a synthetic aromatic resin adsorbent. According to this process, the formation of by-product impurities including racemates of LH-RH derivatives can be suppressed and such impurities can be efficiently removed, which enables the production of LH-RH derivatives having extremely high quality. Further, the process attains satisfactory purification effectively through the two treatment steps and can give LH-RH derivatives efficiently in high yields by easy operations not involving troublesome solid-liquid separation.

(統案有)



(57) 要約:

本発明は、LH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程および芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付すことを特徴とするLH-RH誘導体の製造方法などに関する。

本発明の製造方法により、LH-RH誘導体のラセミ化異性体などの不純物の副生を抑制し、かつラセミ化異性体などの不純物を効率的に除去することが可能になるため、極めて高品質のLH-RH誘導体を製造することが可能になる。また、本発明の製造方法では2度の合成吸着樹脂処理工程で十分な精製を効果的に行うことができ、容易な操作で効率よくかつ煩雑な個液分離操作もなく、高収率でLH-RH誘導体を製造することができる。

明細書

LH-RH誘導体の製造法

技術分野

5 本発明はLH-RH誘導体の簡便で効率のよい工業的製造方法を提供するとともに高品質LH-RH誘導体の製造法を提供するものである。

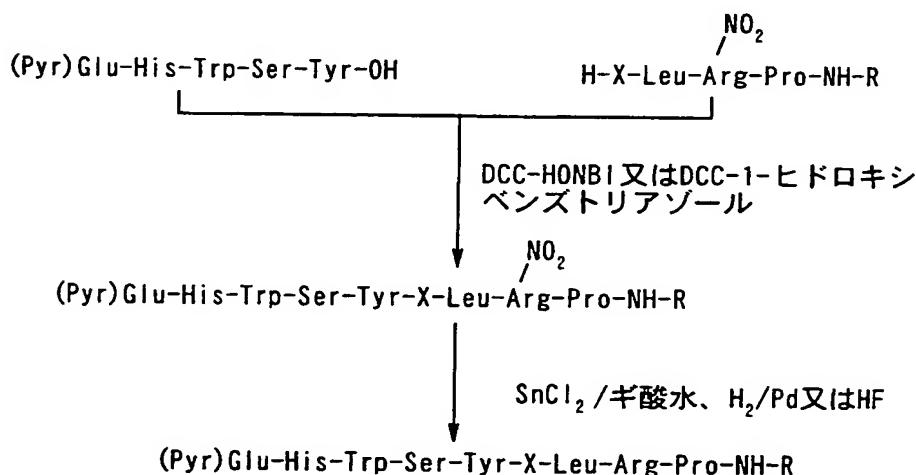
背景技術

LH-RHの誘導体であるペプチドまたはその塩の製造法としては、特開昭10 50-59370号公報（米国特許第4,008,209号公報に対応）には、一般式

(Pyr)Glu-His-Trp-Ser-Tyr(またはPhe)-X-Leu(またはIleまたはNle)-Arg-Pro-NH-R

〔式中、アミノ酸は特に明記しないものはL体を示し、XはD-Leu, D-Nle, D-NVal, D-Ser, D-Abu, D-Phe, D-Pheまたは α -Aibを、Rは水酸基を有してもよいアルキル基を示す〕で表されるペプチドの製造法として、下記の方法が記載されている。

式、

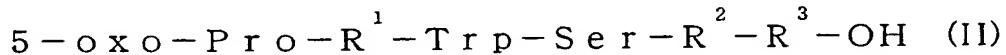


〔式中の記号は前記と同意義を示す〕。

また、特開昭51-6926号公報（米国特許第3,997,516号公報に
対応）には、グアニジノ基を有するペプチドの製造において、グアニジノ基含有
原料化合物のグアニジノ基を低級アルコキシベンゼンスルホニル基またはト
リ低級アルキルベンゼンスルホニル基で保護することを特徴とするペプチドの
5 製造法が記載されている。

さらに、特開昭51-100030号（米国特許第3,997,516号公報
に対応）公報には、グアニジノ基を有するペプチドの製造において、グアニジ
ノ基含有原料化合物のグアニジノ基を低級アルコキシまたはトリ低級アルキ
10 ルベンゼンスルフォニル基で保護してペプチド縮合した後、該保護基をハロゲ
ノスルホン酸または低級アルキルスルホン酸またはルイス酸で脱離させること
を特徴とするペプチドの分離・製造法が記載されている。

また、WO 97/48726号には、一般式



15 〔式中、 R^1 は His, Tyr, Trp または $\text{p}-\text{NH}_2-\text{Phe}$ を、 R^2 は Tyr
または Phe を、 R^3 はそれぞれ置換基を有していてよい Gly または α -
D-アミノ酸残基をそれぞれ示す。〕で表わされるペプチドまたはその塩と、
一般式



20 〔式中、 R^4 は Leu, Ile または Nle を、 R^5 は保護された Arg を、 R^6
は式 $\text{Gly}-\text{NH}-\text{R}^7$ (式中、 R^7 は水素原子または水酸基を有していてよい
アルキル基を示す) または式 $\text{NH}-\text{R}^8$ (式中、 R^8 は水素原子、水酸基を有して
いてよいアルキル基またはウレイド基 ($-\text{NH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) をそれぞれ示
す) で表わされる基を示す〕で表わされるペプチドまたはその塩とを反応させ

25 、一般式



R^6 (I')

[式中の記号は前記と同意義を示す] で表わされるペプチドまたはその塩を得、ついで、得られたペプチド(I')を脱保護基反応に付すことを特徴とする一般

式5-oxo-Pro- R^1 -Trp-Ser- R^2 - R^3 - R^4 -Arg-Pro
5 R^6 (I)

[式中の記号は前記と同意義を示す] で表わされるペプチドまたはその塩の製造法が記載されている。

従来の技術では、保護ペプチドから LH-RH 誘導体を製造する過程において、構成アミノ酸のラセミ化異性体が多く副生される。従来の手法では、弱酸

10 性陽イオン交換樹脂等を用いるカラムクロマトにより LH-RH 誘導体の精製を行うが、ラセミ化異性体等の除去効果に乏しいため、多段階のクロマト操作が必要であったため、より高品質な LH-RH 誘導体を、工業的に効率よく生産することは困難であった。本発明は、保護ペプチドから LH-RH 誘導体を製造する過程における構成アミノ酸のラセミ化を抑制し、ラセミ化異性体及び
15 その他の不純物を効果的に除去するとともに精製工程を簡略・効率化しうる精製法により、LH-RH 誘導体を工業的に極めて有利な方法で、高品質かつ高収率で得ることができる製造法の提供を課題とする。

発明の開示

20 本発明者らは、前述の問題を解決すべく、銳意検討した結果、LH-RH 誘導体の精製工程の改良、および脱保護反応後の後処理の改良を行い、LH-RH 誘導体を製造および精製する過程における構成アミノ酸のラセミ化の抑制方法、ラセミ化異性体及びその他の不純物を効果的に除去しうるとともにイオン交換樹脂処理工程を経ることなく、カラム処理工程を大幅に簡略・効率化しうる精製方法を確立し、LH-RH 誘導体をより高品質かつ高収率で得ができる製造法を見出した。この知見に基づきさらに銳意研究の結果、本発明を

完成した。

即ち、本発明は、

(1) LH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程および芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付すことを特徴とするLH-RH誘導体の製造方法、

(2) LH-RH誘導体が、式

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

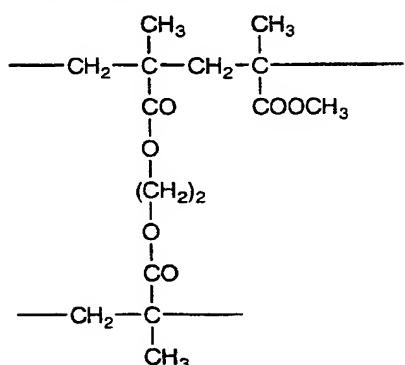
[式中、YはDLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2NalおよびDHis(ImBzl)から選ばれる残基を、ZはNH-C₂H₅またはGly-NH₂をそれぞれ示す]で表されるペプチドまたはその塩である上記(1)記載の製造方法、

(3) LH-RH誘導体が、式

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅

で表されるペプチドまたはその酢酸塩である上記(1)記載の製造方法、

(4) 式



で表される繰り返し単位を有するメタクリル系合成吸着樹脂を用いることを特徴とする上記(1)記載の製造方法、

(5) 芳香族系合成吸着樹脂がスチレン-ジビニルベンゼン系合成吸着樹脂である上記(1)記載の製造方法、

(6) スチレン-ジビニルベンゼン系合成吸着樹脂の平均粒径が約60μmないし約150μmである上記(5)記載の製造方法、

(7) LH-RH誘導体を含有する溶液を約10℃以下でメタクリル系合成吸着樹脂処理工程に付すことを特徴とする上記(1)記載の製造方法、

(8) LH-RH誘導体を含有する溶液を約10℃ないし約20℃で芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付すことを特徴とする上記(1)記載の製造方法、

5 (9) LH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程に付した後、芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付すことを特徴とする上記(1)記載の製造方法、

(10) LH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程において樹脂に通液させた後、樹脂に吸着されたLH-RH誘導体を酢酸水溶液で溶出することを特徴とする上記(1)記載の製造方法、

10 (11) 酢酸水溶液の濃度が約0.01Mないし約0.50Mである上記(10)記載の製造方法、

(12) LH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程において樹脂に通液させた後、エタノール水溶液で洗浄し、樹脂に吸着されたLH-RH誘導溶出することを特徴とする上記(1)記載の製造方法、

(13) LH-RH誘導体を含有する溶液が保護基で保護されたLH-RH誘導体を脱保護反応に付した後、約10℃以下で中和反応に付して得られたLH-RH誘導体を含有する溶液である上記(1)記載の製造方法、

(14) LH-RH誘導体を含有する溶液が保護基で保護されたLH-RH誘導体を脱保護反応に付した後、約10℃以下で中和反応に付し、LH-RH誘導体を抽出した後、抽出液を25℃以下で濃縮して得られたLH-RH誘導体を含有する溶液である上記(1)記載の製造方法、

(15) 保護基で保護されたLH-RH誘導体が、式

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg(X)-Pro-Z

25 [式中、Xは保護基を、YはDLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2NalおよびDHis(ImBzl)から選ばれる残基を、ZはNH-C₂H₅またはGly-NH₂をそれぞれ示す]

で表される上記（13）または上記（14）記載の製造方法、

（16）総類縁物質の含量が約1%以下である精製リュープロレリンまたはその塩、および

（17）5-oxo-Pro-D-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NH-CH₂-CH₃またはその塩の含量が約0.3%以下である精製リュープロレリンまたはその塩などに関する。
5

発明を実施するための最良の形態

本発明は、LH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程および芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付することを特徴とするLH-RH誘導体の製造方法などに関する。
10

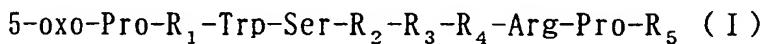
LH-RHアゴニストとしては、例えば、LH-RHアゴニスト活性を有するペプチド性のLH-RH誘導体またはその塩であって、ホルモン依存性疾患、特に性ホルモン依存性癌（例、前立腺癌、子宮癌、乳癌、下垂体腫瘍など）、前立腺肥大症、子宮内膜症、子宮筋腫、思春期早発症、月経困難症、無月経症、月経前症候群、多房性卵巣症候群等の性ホルモン依存性の疾患および避妊（もしくは、その休薬後のリバウンド効果を利用した場合には、不妊症）に有効なペプチド性のLH-RH誘導体またはその塩があげられる。さらに性ホルモン非依存性であるがLH-RH感受性である良性または悪性腫瘍などに有効なLH-RH誘導体またはその塩などもあげられる。
15
20

上記のLH-RH誘導体の塩としては、薬理学的に許容される塩が好ましく、このような塩としては、該LH-RH誘導体がアミノ基等の塩基性基を有する場合、無機酸（無機の遊離酸とも称する）（例、炭酸、重炭酸、塩酸、硫酸、硝酸、ホウ酸等）、有機酸（有機の遊離酸とも称する）（例、コハク酸、酢酸、プロピオン酸、トリフルオロ酢酸等）などとの塩があげられる。
25

該LH-RH誘導体がカルボキシル基等の酸性基を有する場合、無機塩基（

無機の遊離塩基とも称する) (例、ナトリウム、カリウム等のアルカリ金属、カルシウム、マグネシウム等のアルカリ土類金属など) や有機塩基 (有機の遊離塩基とも称する) (例、トリエチルアミン等の有機アミン類、アルギニン等の塩基性アミノ酸類等) などとの塩があげられる。また、該 LH-RH 誘導体 5 は金属錯体化合物 (例、銅錯体、亜鉛錯体等) を形成していてもよい。

LH-RH アゴニスト活性を有するペプチド性の LH-RH 誘導体としては、例えば、式



〔式中、R₁ は His, Tyr, Trp または p-NH₂-Phe を、R₂ は Tyr または Phe を、R₃ は Gly 10 または置換基を有していてもよい D 型のアミノ酸残基を、R₄ は Leu, Ile または Nle を、R₅ は式 Gly-NH-R₆ (R₆ は水素原子または置換されていてもよいアルキル基を示す) で表わされる基または式 NH-R₆' (R₆' は(1)水素原子、(2)アミノ基もしくは水酸基で置換されていてもよいアルキル基または(3)ウレイド (-NH-CO-NH₂) を示す) で表わされるポリペプチドなどがあげられる。〕

15 上記式 (I) において、R₃ で示される D 型のアミノ酸残基としては、例えば炭素数が 1 1 までの α -D-アミノ酸 (例、D-Leu, Ile, Nle, Val, Nval, Abu, Phe, Phg, Ser, Thr, Met, Ala, Trp) などがあげられ、それらは適宜置換基 (例、メチル、t-ブチルなどの C₁₋₄ アルキル基、t-ブトキシなどの C₁₋₄ アルコキシ基、t-ブトキシカルボニルなどの C₁₋₄ アルコキシカルボニル基、2-ナ 20 フチルなどの C₆₋₁₀ アリール基、インドール-3-イル、2-メチルインドリル、ベンジルイミダゾール-2-イルなどのそれぞれ C₁₋₄ アルキル、C₆₋₁₀ アリールもしくは C₆₋₁₀ アリール-C₁₋₄ アルキルで置換されていてもよいイ ンドリル基またはイミダゾリル基など) を 1 ~ 3 個有していてもよい。R₆ で示 25 される置換されていてもよいアルキル基における置換基としては、例えば、水 酸基、アミノがあげられる。アミノ基もしくは水酸基で置換されていてもよい アルキル基におけるアルキル基としては、C₁₋₄ アルキル基があげられ、なかで

もC₁₋₃アルキル基が好ましい。C₁₋₄アルキル基の例としては、例えばメチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチル、sec-ブチル、tert-ブチルがあげられる。置換基の個数は、1～3個があげられるが、1～2個が好ましく、1個が特に好ましい。

5 LH-RHアゴニスト活性を有するペプチド性のLH-RH誘導体としてさらに好ましくは、例えば、式(I I)

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

[式中、YはDLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2NalおよびDHis(ImBzl)から選ばれる残基を、ZはNH-C₂H₅またはGly-NH₂をそれぞれ示す]で表わされる生理活性

10 ペプチドまたはその塩などが用いられる。特に、YがDLeuで、ZがNH-C₂H₅であるペプチド（即ち、5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅で表されるペプチド：リュープロレリン）が好適である。5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅で表されるペプチドの塩としては、上記に例示したものの中なかで、特に酢酸塩（酢酸リュープロレリン）が好ましい。

15 本明細書中に記載されるポリペプチドにおけるアミノ酸、ペプチド、保護基等に關し、略号で表示する場合、IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclatureによる略号あるいは当該分野における慣用略号に基づくものとし、また、アミノ酸に關し光学異性体がありうる場合は、特に明示しなければL体を示すものとする。

20 略号の例を以下に示す。

A b u	：アミノ酪酸
A i b u	：2-アミノ酪酸
A l a	：アラニン
A r g	：アルギニン
25 G l y	：グリシン
H i s	：ヒスチジン

I l e	: イソロイシン
L e u	: ロイシン
M e t	: メチオニン
N l e	: ノルロイシン
5 N v a l	: ノルバリン
P h e	: フェニルアラニン
P h g	: フェニルグリシン
P r o	: プロリン
(P y r) G l u	: ピログルタミン酸
10 S e r	: セリン
T h r	: スレオニン
T r p	: トリプトファン
T y r	: チロシン
V a l	: バリン
15 D 2 N a l	: D-3-(2-ナフチル) アラニン残基
D S e r (t B u)	: O-tert-ブチル-D-セリン
D H i s (I m B z l)	: N ^l -ベンジル-D-ヒスチジン
P A M	: フェニルアセタミドメチル
B o c	: t-ブチルオキシカルボニル
20 F m o c	: 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル
C l - Z	: 2-クロロベンジルオキシカルボニル
B r - Z	: 2-ブロモベンジルオキシカルボニル
B z l	: ベンジル
C l ₂ - B z l	: 2, 6-ジクロロベンジル
25 T o s	: p-トルエンスルホニル
H O N b	: N-ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2、3-ジカルボニル

ルボキシミド

HOBt : 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール

HOObt : 3-ヒドロキシ-3、4-ジヒドロ-4-オキソ-
1、2、3-ベンゾトリアジン

5 MeBzl : 4-メチルベンジル

Bom : ベンジルオキシメチル

Bum : t-ブトキシメチル

Trt : トリチル

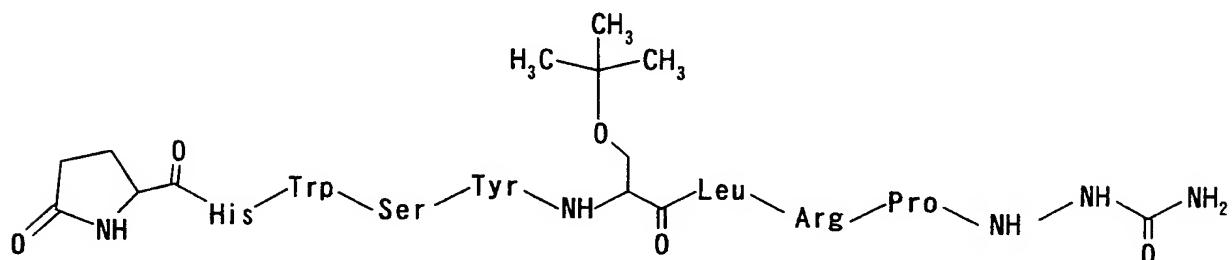
DNP : ジニトロフェニル

10 DCC : N, N'-ジシクロヘキシルカルボジイミド

LH-RHアゴニスト活性を有するペプチド性のLH-RH誘導体として、
上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）の他に好ましい例としては
、例えば、

(1) ゴセレリン(Goserelin)

15 [化1]

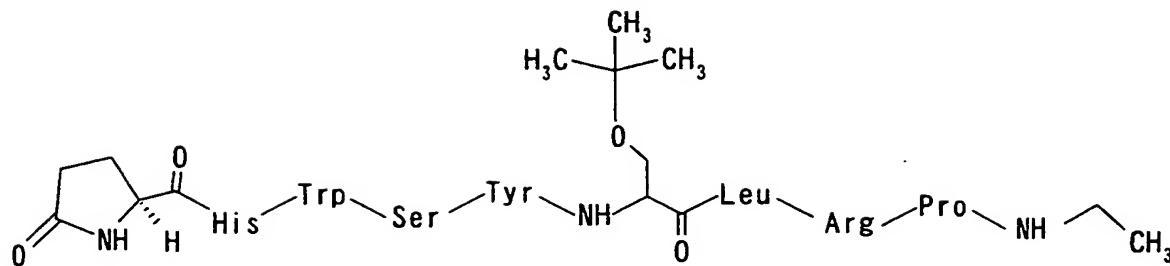


(米国特開第4100274号、特開昭52-136172号)、

(2) ブセレリン(Buserelin)

[化2]

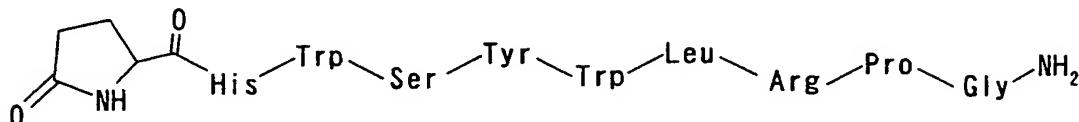
11



(米国特許No. 4, 024, 248、ドイツ特許第2438352号、特開昭和51-41359号)、

(3) トリプトレリン(Triptorelin)

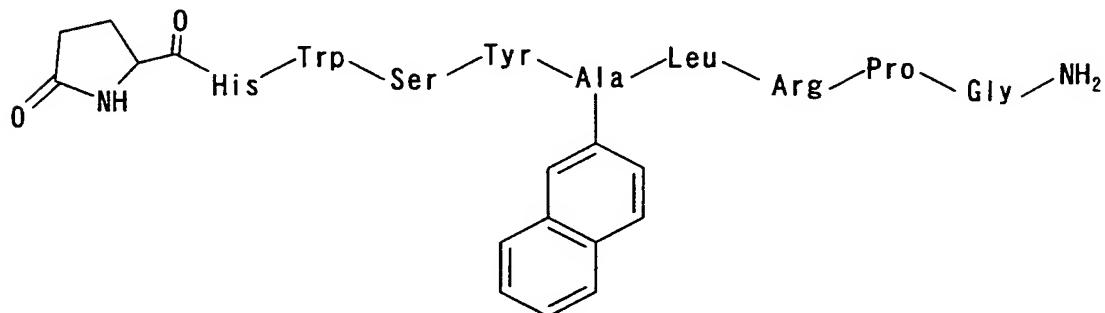
5 [化3]



(米国特開第4010125号、特開昭52-31073号)、

(4) ナファレリン(Nafarelin)

[化4]



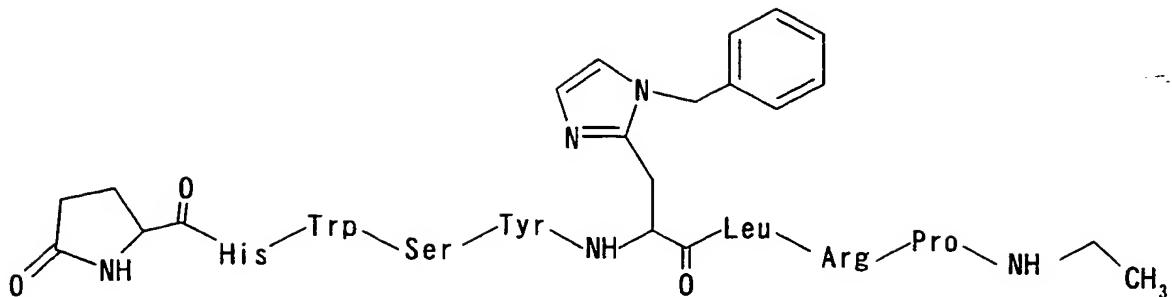
10

(米国特開第4234571号、特開昭55-164663号、同昭63-264498号、同昭64-25794号)、

(5) ヒストレリン(Histrelin)

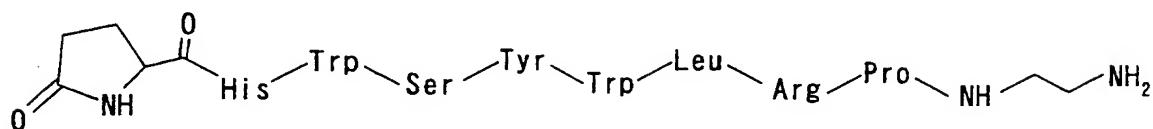
[化5]

12



(6) デスロレリン (Deslorelin)

[化6]

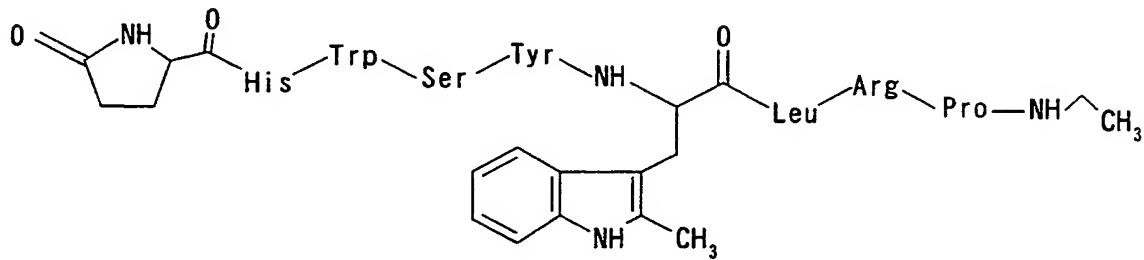


5

(米国特開第4569967号、同4218439号)、

(7) メテレリン (Meterelin)

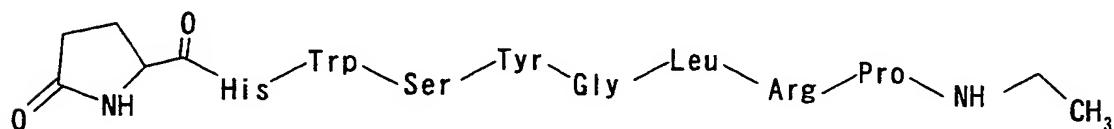
[化7]



10 (PCT WO 91/18016)、

(8) ゴナドレリン (Gonadrelin)

[化8]



(ドイツ特許第2213737号)など、またはそれらの塩などがあげられる。

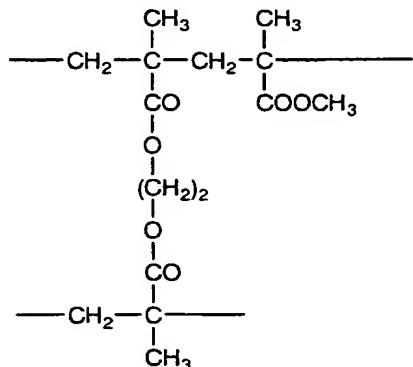
上記〔化1〕～〔化8〕において、前記式(I)のR₃に相当するアミノ酸はD-体である。

5 メタクリル系合成吸着樹脂とは、メタクリル酸エステルを基体とするポリマーの合成吸着樹脂のことを意味し、該樹脂処理工程に付すことによりLH-RH誘導体を製造(精製)することにより(特に後述の芳香族系合成吸着樹脂と組合せて用いることにより)予想外にも、LH-RH誘導体のラセミ化異性体などを効果的に除去することができる。

10 また、LH-RH誘導体のラセミ化異性体などを効果的に除去することができるために、従来行われていた多段階のカラム処理工程を短縮することができる。

15 メタクリル系合成吸着樹脂カラムの具体例としては、例えば、HP2MG(三菱化学社製)、XAD-7、XAD-8(オルガノ社製)など(好ましくは、HP2MG(三菱化学社製)など)があげられるが、LH-RH誘導体のラセミ化異性体などを効果的に除去するという目的を達成する限り、いずれのものを用いてもよい。

メタクリル系合成吸着樹脂として好ましくは、樹脂の粒度分布が、300μm以上の粒径が90%以上であるものが好ましい。また、式



で表される繰り返し単位を有するメタクリル系合成吸着樹脂が好ましい。

特に、メタクリル系合成吸着樹脂（好ましくは、HP 2 MG（三菱化学社製）など）を用いて、上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）を製造（精製）する場合には、リュープロレリン（酢酸リュープロレリン）の5-oxo-Proに隣接するHisにおけるラセミ化異性体（以下D-His²体と略記する）、Hisに5隣接するTrpにおけるラセミ化異性体（以下D-Trp³体と略記する）およびその他の高極性類縁物質を極めて効果的に除去することができる。

上記の「その他の高極性類縁物質」とは、リュープロレリンのペプチドが切断されたペプチド断片及び反応に用いた試薬などをことをいい、具体的には、フェノールなどがあげられる。

10 芳香族系合成吸着樹脂（好ましくは、スチレンージビニルベンゼン系合成吸着樹脂）とは、スチレンージビニルベンゼンを共重合した多孔性ポリマーの合成吸着樹脂のことを意味し、該樹脂処理工程に付すことにより LH-RH誘導体を製造（精製）することにより（特に前述のメタクリル系合成吸着樹脂と組合せて用いることにより）、予想外にも、LH-RH誘導体のラセミ化異性体15などを効果的に除去することができる。芳香族系合成吸着樹脂の具体例としては、例えば、HP 20、HP 21（三菱化学社製）、HP 20SS、SP 20SS（三菱化学社製）、XAD-2、XAD-4（オルガノ社製）など（好ましくは、HP 20SS（三菱化学社製）など）があげられるが、LH-RH誘導体のラセミ化異性体などを効果的に除去するという目的を達成する限り、いずれのものを用いてもよい。

また、芳香族系合成吸着樹脂の粒径が約60μm～約150μmのものを用いることがより好ましい。

また、スチレンージビニルベンゼン系合成吸着樹脂の粒度分布が、150μm以上の粒径が15%以下、63μm以上、150μm未満の粒径が70%以上、63μm未満の粒径が20%以下であるものが好ましく用いられる。

特に、芳香族系合成吸着樹脂（好ましくは、HP 20SS（三菱化学社製）

など）を用いて、上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）を製造（精製）する場合には、リュープロレリン（酢酸リュープロレリン）のD-His²体、L-Leu⁶体およびその他の高極性類縁物質を極めて効果的に除去することができる。

5 「その他の高極性類縁物質」とは、上記と同意義である。

上記の「LH-RH誘導体のラセミ化異性体などを効果的に除去する」という目的を達成するためには、メタクリル系合成吸着樹脂処理工程と芳香族系合成吸着樹脂処理工程とを組合せて用いることが好ましい。この場合、LH-RH誘導体の製造（精製）工程において、メタクリル系合成吸着樹脂処理工程と芳香族系合成吸着樹脂処理工程の順序は特に規定されないが、メタクリル系合成吸着樹脂処理工程に付した後に芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付すことにより、LH-RH誘導体を製造（精製）することが好ましい。

以下にLH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程および芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付すことを特徴とするLH-RH誘導体の製造方法について詳述する。

（1）LH-RH誘導体の精製工程

① 精製前のLH-RH誘導体（以下、粗LH-RH誘導体とする）を緩衝液に溶解して、LH-RH誘導体を含有する溶液を調製する。

用いられる緩衝液としては、合成吸着樹脂へのLH-RH誘導体の吸着を阻害しないものであれば、特に限定はされないが、例えば、水（蒸留水、脱イオン水）、酢酸ナトリウム水溶液、酢酸アンモニウム水溶液、リン酸ナトリウム水溶液、リン酸アンモニウム水溶液、塩化アンモニウム水溶液など（好ましくは酢酸ナトリウム水溶液など）が用いられる。

また、LH-RH誘導体のラセミ化異性体の副生を抑制するため、pH調節剤（例えば、酢酸、リン酸、塩酸など）により、LH-RH誘導体を含有する溶液のpHを約4～約6、好ましくは約4～約5に調節することが好ましい

さらに、LH-RH誘導体が上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）の場合には、リュープロレリン（酢酸リュープロレリン）のHisに隣接するTrpにおけるラセミ化異性体（以下D-Trp³体と略記する）、リュープロレリン（酢酸リュープロレリン）のTrpに隣接するSerにおけるラセミ化異性体（以下D-Ser⁴体と略記する）の副生を防ぐために、LH-RH誘導体を含有する溶液の温度は約10℃以下、好ましくは約3℃～約7℃に調整されることが好ましい。

また、LH-RH誘導体のラセミ化異性体（具体的には、上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）の場合には、D-Trp³体）及び高極性類縁物質の副生を防ぐために、LH-RH誘導体を含有する溶液は、調製後速やかに次操作（メタクリル系合成吸着樹脂処理工程）に付すことが好ましい。

② 上記①により得られたLH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程に付す。

具体的には、まず、上記①により得られたLH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂に通液することでLH-RH誘導体を樹脂に吸着させ、緩衝液および／またはアルコール水溶液（例、エタノール水溶液、メタノール水溶液、n-プロパノール水溶液、イソプロパノール水溶液など（好ましくはエタノール水溶液など））で洗浄する。緩衝液としては、例えば、水（蒸留水、脱イオン水）、酢酸ナトリウム水溶液、酢酸アンモニウム水溶液、リン酸ナトリウム水溶液、リン酸アンモニウム水溶液、塩化アンモニウム水溶液など（好ましくは酢酸ナトリウム水溶液、酢酸アンモニウム水溶液など）が用いられる。また、エタノール水溶液を用いて洗浄することにより、高極性類縁物質（具体的には上述）を効果的に除去できる。このときのエタノール水溶液の濃度としては、約0～約20容量%、好ましくは、約5～約15容量%であることが好ましい。

続いて、溶出液（例えば、酢酸水溶液、プロピオン酸水溶液、塩酸、リン酸

水溶液など、好ましくは酢酸水溶液など) を用いて、樹脂に吸着された LH-RH 誘導体を溶出する。このときの溶出液の濃度は約 0.01M ~ 約 0.50M、好ましくは約 0.05M ~ 約 0.20M、より好ましくは約 0.05M ~ 約 0.10M であることが好ましい。また溶出液の pH は中性以下、好ましくは約 pH 3 ~ 6 に保つことが好ましい。これらの条件で溶出を行うことにより、LH-RH 誘導体のラセミ化異性体 (具体的には、上記のリュープロレリン (酢酸リュープロレリン) の場合には、D-Trp³体、D-Ser⁴体) の副生を効率的に防ぐことが可能となる。

また、上記①により得られた LH-RH 誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程に付す工程中、操作温度を約 10°C 以下、好ましくは約 10°C ~ 約 10°C、さらに好ましくは約 3°C ~ 約 7°C に保つことにより、LH-RH 誘導体のラセミ化異性体 (具体的には、上記のリュープロレリン (酢酸リュープロレリン) の場合には、D-Trp³体、D-Ser⁴体) の副生を効率的に防ぐことが可能となる。

メタクリル系合成吸着樹脂処理工程には、好ましくはメタクリル系合成吸着樹脂を充填したカラムが用いられる。

③ 上記②により得られた LH-RH 誘導体を含有する溶液 (溶出液) を自体公知の方法で濃縮することにより得られる LH-RH 誘導体を含有する溶液を芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付す。

具体的には、まず、上記②により得られた LH-RH 誘導体を含有する溶液 (溶出液) を自体公知の方法で濃縮することにより得られる LH-RH 誘導体を含有する溶液を芳香族系合成吸着樹脂に吸着させ、緩衝液で洗浄する。緩衝液としては、合成吸着樹脂への LH-RH 誘導体の吸着を阻害しないものであれば、特に限定はされないが、例えば、水 (蒸留水、脱イオン水)、酢酸ナトリウム水溶液、酢酸アンモニウム水溶液、リン酸ナトリウム水溶液、リン酸アンモニウム水溶液、塩化アンモニウム水溶液など (好ましくは酢酸ナトリウム水溶液など) が用いられる。また洗浄は、エタノール水溶液、メタノール水溶

液、n-プロパノール水溶液、イソプロパノール水溶液などのアルコール水溶液（好ましくはエタノール水溶液など）などをさらに用いても良い。

続いて、溶出液（例えば、エタノール水溶液、メタノール水溶液、n-プロパノール水溶液、イソプロパノール水溶液などのアルコール水溶液など、好ましくはエタノール水溶液など）を用いて、LH-RH誘導体を溶出する。このときの溶出液の濃度は約10容量%～約50容量%、好ましくは、約15容量%～約40容量%であることが好ましい。また溶出は、数回（好ましくは2回）に分けて行なうことが好ましく、これらの好ましい条件下で溶出を行うことにより、LH-RH誘導体のラセミ化異性体（具体的には、上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）の場合には、リュープロレリン（酢酸リュープロレリン）のTyrに隣接するD-Leuにおけるラセミ化異性体（以下L-Leu⁶体と略記する））およびその他の高極性物質（具体的には、上述）をより効果的に除去することができる。また、これらの溶出液は、約0容量%～約0.1容量%の酢酸、好ましくは約0.005容量%～約0.01容量%の酢酸を含有することが好ましく、この好ましい条件下で溶出を行うことにより、LH-RH誘導体のラセミ化異性体（具体的には、上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）の場合には、D-Trp³体、D-Ser⁴体）の副生をより効果的に抑制することができる。

また、上記②により得られたLH-RH誘導体を含有する溶液（溶出液）を自体公知の方法で濃縮することにより得られるLH-RH誘導体を含有する溶液を芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付す際、処理工程温度を室温以下、好ましくは約10℃～約20℃、さらに好ましくは約13℃～約17℃に保つことにより、LH-RH誘導体のラセミ化異性体（具体的には、上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）の場合には、リュープロレリン（酢酸リュープロレリン）のTyrに隣接するD-Leuにおけるラセミ化異性体（以下L-Leu⁶体と略記する））およびその他の高極性物質（具体的には、上述）の除去はより効果的になる。

芳香族系合成吸着樹脂処理工程には、好ましくは芳香族系合成吸着樹脂を充填したカラムが用いられる。

続いて、得られたLH-RH誘導体を含有する溶液（溶出液）を自体公知の方法で濃縮することにより、非常に高品質なLH-RH誘導体を高収量で得る

5 ことができる。

LH-RH誘導体の精製工程における①の工程と②の工程の順序は逆転してもよいが、メタクリル系合成吸着樹脂処理工程による精製後、芳香族系合成吸着樹脂処理工程による精製を行うことにより、LH-RH誘導体のラセミ化異性体（具体的には、上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）の

10 場合には、特にリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）のTrp³体およびSer⁴体））の除去および副生抑制はより効果的になる。

（2）脱保護反応後、精製前の処理工程

本発明の製造法は、LH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程および芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付すことを特徴とする

15 LH-RH誘導体の精製方法に関する。また本発明は保護基で保護されたLH-RH誘導体を脱保護反応に付してから合成吸着樹脂処理工程に付す前のLH-RH誘導体を含有する溶液を調製する工程（精製前の処理工程）を低温で行うことにより、より高品質のLH-RH誘導体を製造する方法に関する。

以下に精製前の処理工程について詳述する。

20 ①粗LH-RH誘導体の製造

上記のとおり、本発明の製造法によって得られるLH-RH誘導体はペプチド性のものであるので、自体公知のペプチド合成法によって粗LH-RH誘導体を合成することができる。ペプチドの合成法としては、例えば、固相合成法、液相合成法のいずれによっても良い。すなわち、粗LH-RH誘導体を構成し得る部分ペプチドもしくはアミノ酸と残余部分とを縮合させ、生成物が保護基を有する場合は保護基を脱離することにより目的のペプチドを製造すること

ができる。公知の縮合方法や保護基の脱離としては、例えば、以下の1～5に記載された方法があげられる。

1. M. Bodanszky および M. A. Ondetti、ペプチド・シンセシス (Peptide Synthesis), Interscience Publishers, New York (1966年)
- 5 2. SchroederおよびLuebke、ザ・ペプチド(The Peptide), Academic Press, New York (1965年)
3. 泉屋信夫他、ペプチド合成の基礎と実験、丸善(株) (1975年)
4. 矢島治明 および榎原俊平、生化学実験講座 1、タンパク質の化学IV、205、(1977年)
- 10 5. 矢島治明監修、統医薬品の開発、第14巻、ペプチド合成、広川書店

粗LH-RH誘導体の合成には、通常市販のペプチド合成用樹脂を用いることができる。そのような樹脂としては、例えば、クロロメチル樹脂、ヒドロキシメチル樹脂、ベンズヒドリルアミン樹脂、アミノメチル樹脂、4-ベンジルオキシベンジルアルコール樹脂、4-メチルベンズヒドリルアミン樹脂、PAM樹脂、4-ヒドロキシメチルメチルフェニルアセトアミドメチル樹脂、ポリアクリルアミド樹脂、4-(2',4'-ジメトキシフェニル-ヒドロキシメチル)フェノキシ樹脂、4-(2',4'-ジメトキシフェニル-Fmocアミノエチル)フェノキシ樹脂などをあげることができる。このような樹脂を用い、 α -アミノ基と側鎖官能基を適当に保護したアミノ酸を、目的とする粗LH-RH誘導体の配列通りに、自体公知の各種縮合方法に従い、樹脂上で縮合させ、保護基で保護されたLH-RH誘導体を得ることができる。反応の最後に樹脂から粗LH-RH誘導体ペプチドを切り出すと同時に各種保護基を除去し、目的の粗LH-RH誘導体を取得する。

上記した保護アミノ酸の縮合に関しては、ペプチド合成に使用できる各種活性化試薬を用いることができるが、特に、カルボジイミド類がよい。カルボジイミド類としては、DCC、N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド、N-エチル-N'

(3-ジメチルアミノプロリル)カルボジイミドなどが用いられる。これらによる活性化にはラセミ化抑制添加剤（例えば、HOBt, HOOBt, HONb）とともに保護アミノ酸を直接樹脂に添加するかまたは、対称酸無水物またはHOBtエステルあるいはHOOBtエステルとしてあらかじめ保護アミノ酸の活性化を行なった後に樹脂に添加することができる。

保護アミノ酸の活性化や樹脂との縮合に用いられる溶媒としては、ペプチド縮合反応に使用しうることが知られている溶媒から適宜選択されうる。例えば、N, N-ジメチルホルムアミド、N, N-ジメチルアセトアミド、N-メチルピロリドンなどの酸アミド類、塩化メチレン、クロロホルムなどのハロゲン化炭化水素類、トリフルオロエタノールなどのアルコール類、ジメチルスルホキシドなどのスルホキシド類、ピリジン、ジオキサン、テトラヒドロフランなどのエーテル類、アセトニトリル、プロピオニトリルなどのニトリル類、酢酸メチル、酢酸エチルなどのエステル類あるいはこれらの適宜の混合物などが用いられる。反応温度はペプチド結合形成反応に使用され得ることが知られている範囲から適宜選択され、通常約-20℃～50℃の範囲から適宜選択される。活性化されたアミノ酸誘導体は通常1.5～4倍過剰で用いられる。ニンヒドリン反応を用いたテストの結果、縮合が不十分な場合には保護基の脱離を行なうことなく縮合反応を繰り返すことにより十分な縮合を行なうことができる。反応を繰り返しても十分な縮合が得られないときには、無水酢酸またはアセチルイミダゾールを用いて未反応アミノ酸をアセチル化することによって、後の反応に影響を与えないようにすることができる。

原料のアミノ基の保護基としては、例えば、Z、Boc、t-ペンチルオキシカルボニル、イソボルニルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、Cl-Z、Br-Z、アダマンチルオキシカルボニル、トリフルオロアセチル、フタロイル、ニトロ、ホルミル、2-ニトロフェニルスルフェニル、ジフェニルホスフィノチオイル、Fmoc、p-メトキシベンゼンスルホニルなどが用い

られる。

カルボキシル基は、例えば、アルキルエステル化（例えば、メチル、エチル、プロピル、ブチル、*t*−ブチル、シクロペンチル、シクロヘキシル、シクロヘプチル、シクロオクチル、2−アダマンチルなどの直鎖状、分枝状もしくは5環状アルキルエステル化）、アラルキルエステル化（例えば、ベンジルエステル、4−ニトロベンジルエステル、4−メトキシベンジルエステル、4−クロロベンジルエステル、ベンズヒドリルエステル化）、フェナシルエステル化、ベンジルオキシカルボニルヒドラジド化、*t*−ブトキシカルボニルヒドラジド化、トリチルヒドラジド化などによって保護することができる。

10 セリンの水酸基は、例えば、エステル化またはエーテル化によって保護することができる。このエステル化に適する基としては、例えば、アセチル基などの低級（C_{1−6}）アルカノイル基、ベンゾイル基などのアロイル基、ベンジルオキシカルボニル基、エトキシカルボニル基などの炭酸から誘導される基などが用いられる。また、エーテル化に適する基としては、例えば、ベンジル基、テ15トラヒドロピラニル基、*t*−ブチル基などである。

チロシンのフェノール性水酸基の保護基としては、例えば、Bzl、C₁₂−Bzl、2−ニトロベンジル、Br-Z、*t*−ブチルなどが用いられる。

ヒスチジンのイミダゾールの保護基としては、例えば、Tos、4−メトキシ−2,3,6−トリメチルベンゼンスルホニル、DNP、ベンジルオキシメチル、Bum、Boc20、Trt、Fmocなどが用いられる。

保護基で保護された（粗）LH−RH誘導体としては、上記のLH−RH誘導体の構成アミノ酸のα−アミノ基と側鎖官能基を上記の保護基で保護したものなどがあげられる。

保護基で保護されたLH−RH誘導体として、具体的には、例えば、式（III25）

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg(X)-Pro-Z

[式中、Xは保護基を、YはDLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2NalおよびDHis(ImBzl)から選ばれる残基を、ZはNH-C₂H₅またはGly-NH₂をそれぞれ示す]で表されるペプチドまたはその塩などがあげられる。

式 (III) 中、Xで表される保護基としては、例えば、Z、Boc、t-ペニチル
5 オキシカルボニル、イソボルニルオキシカルボニル、4-メトキシベンジルオキシカルボニル、Cl-Z、Br-Z、アダマンチルオキシカルボニル、トリフルオロアセチル、フタロイル、ニトロ、ホルミル、2-ニトロフェニルスルフェニル、ジフェニルホスフィノチオイル、Fmoc、p-メトキシベンゼンスルホニルなどが用いられるが、特にp-メトキシベンゼンスルホニルなどが好ましい。
10 式 (III) で表されるペプチドの塩としては、例えば、上述の塩と同様なものが用いられる。

また、式 (III) で表されるペプチドまたはその塩は、上述の自体公知のペプチド合成法によって製造することができるが、具体的には、例えば、WO 97
15 / 48726号に記載の方法またはそれに準じた方法により、製造することができる。

保護基の除去方法（脱保護反応）としては、例えば、Pd-黒あるいはPd-炭素などの触媒の存在下での水素気流中での接触還元や、また、無水フッ化水素、メタンスルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸あるいはこれらの混合液など（好ましくはメタンスルホン酸など）による酸処理
20 や、ジイソプロピルエチルアミン、トリエチルアミン、ピペリジン、ピペラジンなどによる塩基処理、また液体アンモニア中ナトリウムによる還元なども用いられる。上記の脱保護反応は、一般に約40℃以下の温度で行なわれるが、脱保護反応を約25℃以下、好ましくは約5℃～約15℃、さらに好ましくは約8℃～約12℃で行うことにより、LH-RH誘導体のラセミ化異性体（具体的には、上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）の場合には、リュープロレリン（酢酸リュープロレリン）のD-His²体）の副生を効果的に抑制す
25

5 ることができる。酸処理においては、例えば、アニソール、フェノール、チオアニソール、メタクレゾール、パラクレゾール、ジメチルスルフィド、1,4-ブタンジチオール、1,2-エタンジチオールなど（好ましくはフェノールなど）のようなカチオン捕捉剤の添加が有効である。また、ヒスチジンのイミダゾール保護基として用いられる2,4-ジニトロフェニル基はチオフェノール処理により除去され、トリプトファンのインドール保護基として用いられるホルミル基は上記の1,2-エタンジチオール、1,4-ブタンジチオールなどの存在下の酸処理による脱保護以外に、希水酸化ナトリウム溶液、希アンモニアなどによるアルカリ処理によっても除去される。

10 10 上記の脱保護反応の反応時間は通常約1～約10時間、好ましくは約2時間～約5時間、さらに好ましくは、約2時間～約3時間である。

15 より具体的な保護基の除去（脱保護）方法としては、例えば、式（III）で表されるペプチドまたはその塩を脱保護反応に付す場合には、無水フッ化水素、メタンスルホン酸、トリフルオロメタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸あるいはこれらの混合液など（好ましくはメタンスルホン酸など）による酸処理が好ましい方法としてあげられる。また、このときに、例えば、アニソール、フェノール、チオアニソール、メタクレゾール、パラクレゾール、ジメチルスルフィド、1,4-ブタンジチオール、1,2-エタンジチオールなど（好ましくはフェノールなど）のカチオン捕捉剤を添加することが好ましい。脱保護反応は、一般に約40℃以下の温度で行なわれるが、約25℃以下、好ましくは約5℃～約15℃、さらに好ましくは約8℃～約12℃で行うことにより、LH-RH誘導体のラセミ化異性体（具体的には、上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）の場合には、リュープロレリン（酢酸リュープロレリン）のD-His²体）の副生を効果的に抑制することができる。

20 20 原料の反応に関与すべきでない官能基の保護ならびに保護基、およびその保護基の脱離、反応に関与する官能基の活性化などは公知の基または公知の手段

から適宜選択しうる。

② 脱保護反応後の後処理工程

まず、上記①の脱保護反応によって得られたLH-RH誘導体を含有する溶液（反応液）を中和する。中和液としては、公知のものから適宜選択されるが
5 、例えば、脱保護反応が酸処理により行われた場合には、水酸化ナトリウム水溶液、水酸化カリウム水溶液、炭酸ナトリウム水溶液、炭酸水素ナトリウム水溶液、アンモニア水、トリエチルアミンなど（好ましくは、炭酸ナトリウム水溶液など）が、脱保護反応が塩基処理により行われた場合には、塩酸、酢酸など（好ましくは、塩酸など）が用いられる。

10 中和反応は一般に約40℃以下の温度で行なわれるが、中和反応を約10℃以下、好ましくは約5℃以下、さらに好ましくは約-5℃～約5℃で行うことにより、LH-RH誘導体のラセミ化異性体（具体的には、上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）の場合には、リュープロレリン（酢酸リュープロレリン）のD-Trp³体）の副生を効果的に抑制することができる。

15 次に、中和液の有機層を取得後、緩衝液（例えば、酢酸ナトリウム水溶液、酢酸アンモニウム水溶液、塩化アンモニウム水溶液、リン酸ナトリウム水溶液、リン酸アンモニウム水溶液など（好ましくは、酢酸ナトリウム水溶液など））を添加して、LH-RH誘導体を水層に転溶する。また、緩衝液のpHは約3～約5、好ましくは約3.9～約4.3に調整することが好ましい。

20 水層を酢酸エチル、酢酸メチル、トルエン、塩化メチレンまたはエーテルなど（好ましくは、酢酸エチルなど）で洗浄し、自体公知の方法で濃縮を行い、酢酸、塩酸またはリン酸など（好ましくは、酢酸など）のpH調節剤で溶液のpHを約4～約6、好ましくは約4.3～約4.7に調節してLH-RH誘導体を含有する水溶液を得ることができる。

25 上記の中和液の有機層を取得してからLH-RH誘導体を含有する水溶液を取得するまでの一連の工程は一般に約40℃以下の温度で行なわれるが、これ

らの工程を約0℃～約10℃、好ましくは約3℃～約7℃で行うことにより、LH-RH誘導体のラセミ化異性体（具体的には、上記のリュープロレリン（酢酸リュープロレリン）の場合には、リュープロレリン（酢酸リュープロレリン）のD-Trp³体）の副生を効果的に抑制することができる。

5 本発明の製造方法により得られるLH-RH誘導体は従来の技術により得られるLH-RH誘導体に比べ、不純物（LH-RH誘導体のラセミ化異性体、高極性類縁物質、その他の不純物）の量が大幅に少ない極めて高品質のLH-RH誘導体である。また、従来の技術では、LH-RH誘導体を精製するには、合成吸着樹脂処理工程またはイオン交換樹脂処理工程を数度にわたり繰り返すねばならないが、本発明では2度の合成吸着樹脂処理工程で十分な精製を効果的に行うことができ、作業時間を短縮し、高収率でLH-RH誘導体を製造することができる。この点からも従来技術に比べ、本発明の製造法はLH-RH誘導体の工業的製造法として極めて有利な方法である。

15 上記のとおり、本発明の製造方法により、非常に高品質のLH-RH誘導体を高収量で得ることができる。

「高品質のLH-RH誘導体」としてより具体的には、例えば、総類縁物質の含量が約1%以下（好ましくは約0.9%以下、より好ましくは約0.8%以下、更に好ましくは約0.7%以下）である精製LH-RH誘導体（好ましくは、精製リュープロレリンまたはその塩など）などがあげられる。

20 ここで、総類縁物質とは、高速液体クロマトグラフィー等により検出される、全ての不純物の合計を意味し、不純物としては、LH-RH誘導体のラセミ化異性体、高極性類縁物質、その他の不純物である。

さらに具体的には、例えば、精製LH-RH誘導体が精製リュープロレリンまたはその塩である場合、① 5-oxo-Pro-D-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NH-CH₂-CH₃またはその塩の含量が約0.3%以下（このましくは約0.25%以下、更に好ましくは、約0.2%以下である精製リュープロレリンまたは

その塩、② 5-oxo-Pro-His-Trp-D-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NH-CH₂-CH₃またはその塩の含量が約0.15%以下（このましくは約0.1%以下、更に好ましくは、約0%である精製リュープロレリンまたはその塩などがあげられる。

上記の精製LH-RH誘導体は、低毒性であり、哺乳動物（例、ヒト、サル5、イヌ、ラット、マウス）に対して、前立腺癌、良性前立腺肥大、子宮内膜症、子宮筋腫、子宮線維腫、思春期早発症、乳癌、卵巣癌、子宮頸癌等の性ホルモン依存性疾患あるいはアルツハイマーの予防薬または治療薬として、投与することができる。

また、上記の精製LH-RH誘導体は、必要に応じて糖衣を施した錠剤、カ10プセル剤、エリキシル剤、徐放性製剤などとして経口的に、あるいは水もしくはそれ以外の薬学的に許容し得る液との無菌性溶液、または懸濁液剤、徐放性製剤などの注射剤、または溶液、懸濁液剤などの経鼻投与製剤の形で非経口的に投与できる。上記の精製LH-RH誘導体を生理学的に認められる公知の担15体、香味剤、賦形剤、ベヒクル、防腐剤、安定剤、結合剤などとともに一般に認められた製剤実施に要求される単位用量形態で混和することによって上記製剤を製造することができる。

錠剤、カプセル剤などに混和することができる添加剤としては、例えばゼラチン、コーンスターーチ、トラガント、アラビアゴムのような結合剤、結晶性セルロースのような賦形剤、コーンスターーチ、ゼラチン、アルギン酸などの20ような膨化剤、ステアリン酸マグネシウムのような潤滑剤、ショ糖、乳糖またはサッカリンのような甘味剤、ペパーミント、アカモノ油またはチェリーのような香味剤などが用いられる。調剤単位形態がカプセルである場合には、前記タイプの材料にさらに油脂のような液状担体を含有することができる。注射のための無菌組成物は注射用水のようなベヒクル中の活性物質、胡麻油、椰子油など25のような天然産出植物油などを溶解または懸濁させるなどの通常の製剤実施に従って処方することができる。注射用の水性液としては、例えば、生理食塩水

、ブドウ糖やその他の補助薬を含む等張液（例えば、D-ソルビトール、D-マンニトール、塩化ナトリウムなど）などが用いられ、適当な溶解補助剤、例えば、アルコール（例、エタノール）、ポリアルコール（例、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール）、非イオン性界面活性剤（例、ポリソルベート80（TM）、HCO-50）などと併用してもよい。油性液としては、例えば、ゴマ油、大豆油などが用いられ、溶解補助剤である安息香酸ベンジル、ベンジルアルコールなどと併用してもよい。

また、上記製剤は、例えば、緩衝剤（例えば、リン酸塩緩衝液、酢酸ナトリウム緩衝液）、無痛化剤（例えば、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカインなど）、安定剤（例えば、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコールなど）、保存剤（例えば、ベンジルアルコール、フェノールなど）、酸化防止剤などと配合してもよい。調製された注射液は通常、適当なアンプルに充填される。

上記の精製LH-RH誘導体を含有してなる徐放性製剤は、自体公知の方法、例えば、特開昭60-100516号、特開昭62-201816号、特開平4-321622号、特開平6-192068号、特開平9-132524号、特開平9-221417号、特開平11-279054号、WO 99/360099号公報などに記載の方法に従って製造することができる。

上記の精製LH-RH誘導体の投与量は、対象疾病、対象動物などによって種々異なるが、1回当たりの投与量としては、例えば、好ましくは成人の前立腺癌患者1人当たり約0.01mg-100mg/kg体重の範囲から適宜選ぶことができる。さらに好ましくは約0.05mg-50mg/kg体重の範囲から適宜選ぶことができる。

該上記の精製LH-RH誘導体を含有する徐放性製剤の投与量は、例えば、薬効期間が1ヶ月である徐放性製剤の場合、1回当たりの徐放性製剤の投与量は成人の前立腺癌患者1人当たり好ましくは、約0.1mg-500mg/kg体重の範囲から適宜選ぶことができる。さらに好ましくは約0.2mg-300mg/kg体重の範囲

から適宜選ぶことができる。

実施例

以下、実施例によって本発明を具体的に説明するが、これらは本発明を何ら

5 限定するものではない。

実施例 1 5-オキソ-L-プロリル-L-ヒスチジル-L-トリプトフィル-L-セリル-L-チロシル-D-ロイシル-L-ロイシル-L-アルギニル-N-エチル-L-プロリンアミド (リュープロレリン、リュープロライド、Leuprolide) の製造 (1)

10 メタンスルホン酸748gとフェノール56gの混液に、5-オキソ-L-プロリル-L-ヒスチジル-L-トリプトフィル-L-セリル-L-チロシル-D-ロイシル-L-ロイシル-N^ω-p-メトキシベンゼンスルホニル-L-アルギニル-N-エチル-L-プロリンアミド 68.35g (純量52.92g) を加え、8~12°Cで約3時間反応した。炭酸カリウム (646g) 水溶液 (水1896mL) と酢酸エチル396mLの混液に、反応液を-5~5°Cで加え、15 続いて3~7°Cで30分間攪拌し中和した。分液後、有機層に0.11M酢酸ナトリウム緩衝液 (pH3.9~4.3) 2316mLを加えて、3~7°Cで攪拌し抽出した。酢酸でpH4.3~4.7に調整し、酢酸エチル372mLを加えた後、分液した。水層を酢酸エチル372mLで、3~7°Cで洗浄した。水層を25°C以下で減圧濃縮後、酢酸でpH4.3~4.7に調整し、Leuprolideの水溶液(1)を得た。

20 Leuprolide acetate収量: 44.26g (90.9%)

高速液体クロマトグラフィー品質 (対Leuprolideピーク面積比率) : D-Trp³体; 不検出, D-Ser⁴体; 不検出, D-His²体; 0.27%, L-Leu⁶体; 1.14%

実施例 2 5-オキソ-L-プロリル-L-ヒスチジル-L-トリプトフィル-L-セリル-

25 L-チロシル-D-ロイシル-L-ロイシル-L-アルギニル-N-エチル-L-プロリンアミド (Leuprolide) の製造 (2)

Leuprolideの水溶液(1)5600g (Leuprolide acetate 85.46g) をメタクリル系合成吸着樹脂 (H P 2 M G : 三菱化学) 5500mLのカラムクロマトに3~7°Cで通液した。0.3M酢酸ナトリウム水溶液 (pH6.3) 11000mL、0.025M酢酸アンモニウム水溶液13750mL、10容量%エタノール水溶液19250mLを、3~7°Cで順次通液し
5 洗浄した。3~7°Cで、0.05M酢酸水溶液41250mLを通液し溶離を行った。有効区を集め、35°C以下で減圧濃縮を行い、Leuprolideの水溶液(2)を得た。

Leuprolide acetate収量 : 73.77g (86.3%)

高速液体クロマトグラフィー品質 (対Leuprolideピーク面積比率) : D-Trp³体 ; 0.11%, D-Ser⁴体 ; 0.03%, D-His²体 ; 0.24%, L-Leu⁶体 ; 0.42%

10

実施例3 5-オキソ-L-プロリル-L-ヒスチジル-L-トリプトフィル-L-セリル-L-チロシル-D-ロイシル-L-ロイシル-L-アルギニル-N-エチル-L-プロリンアミド (Leuprolide) の製造 (3)

Leuprolideの水溶液(2)3731g (Leuprolide acetate 73.54g) を芳香族系合成吸着樹脂の小粒径品 (H P 2 0 S S : 三菱化学) 2200mLのカラムクロマトに13~17°Cで通液した。0.1M酢酸ナトリウム水溶液 (pH6.3) 6600mL、0.01M酢酸アンモニウム水溶液9900mL、水2200mLを、13~17°Cで順次通液し洗浄した。13~17°Cで、20容量%エタノール水溶液8800mL、35容量%エタノール水溶液8800mLで順次溶離を行った。有効区を集め35°C以下で減圧濃縮を行い、Leuprolideの水溶液(3)を得た。

Leuprolide acetate収量 : 64.55g (87.8%)

高速液体クロマトグラフィー品質 (対Leuprolideピーク面積比率) : D-Trp³体 ; 0.12%, D-Ser⁴体 ; 0.04%, D-His²体 ; 0.18%, L-Leu⁶体 ; 不検出

25 実施例4 5-オキソ-L-プロリル-L-ヒスチジル-L-トリプトフィル-L-セリル-L-チロシル-D-ロイシル-L-ロイシル-L-アルギニル-N-エチル-L-プロリンアミ

ド 一酢酸塩 (Leuprolide acetate) の製造 (4)

Leuprolideの水溶液(3)436.7g (Leuprolide acetate 63.90g) を架橋デキストランゲル (Sephadex LH-20 : ファルマシア) 2350mLを用いてカラムクロマトを行い、0.005N酢酸水溶液で溶出させた。有効区を集め、活性炭1.16gで脱色を行った。活性炭を濾去後、35℃以下で減圧濃縮し、濃縮液を限外濾過した。濾過液を凍結乾燥し、Leuprolide acetateの凍結乾燥品60.38gを得た。

Leuprolide acetate収量 : 60.02g (98.9%)

高速液体クロマトグラフィー品質 (対Leuprolideピーク面積比率) : D-Trp³体 ; 0.11%, D-Ser⁴体 ; 0.03%, D-His²体 ; 0.18%, L-Leu⁶体 ; 不検出

10

実施例 5 5-オキソ-L-プロリル-L-ヒスチジル-L-トリプトフィル-L-セリル-L-チロシル-D-ロイシル-L-ロイシル-L-アルギニル-N-エチル-L-プロリンアミド (Leuprolide) の製造 (3')

Leuprolideの水溶液(2)200L (Leuprolide acetate 4080g) を、芳香族系合成吸着樹脂の小粒径品 (HP 20 S S : 三菱化学) 120Lのカラムクロマトに13～17℃で通液した。0.1mol/L酢酸ナトリウム水溶液 (pH6.3) 360L、0.01mol/L酢酸アンモニウム水溶液540L、水120Lを13～17℃で順次通液し洗浄した。13～17℃で、15容量%エタノール水溶液 (酢酸0.01W/V%を含む) 960L、20容量%エタノール水溶液 (酢酸0.01W/V%を含む) 480L、30容量%エタノール水溶液 (酢酸0.01W/V%を含む) 360Lで順次溶離を行った。有効区を集め35℃以下で減圧濃縮を行い、Leuprolideの水溶液を得た。

Leuprolide acetate収量 : 3527g (86.4%)

高速液体クロマトグラフィー品質 (対Leuprolideピーク面積比率) : D-Trp³体 ; 0.13%, D-Ser⁴体 ; 0.04%, D-His²体 ; 0.25%, L-Leu⁶体 ; 不検出

25

産業上の利用可能性

本発明の製造方法により、LH-RH誘導体のラセミ化異性体などの不純物の副生を抑制し、かつラセミ化異性体などの不純物を効率的に除去することが可能になるため、極めて高品質のLH-RH誘導体を製造することが可能になる。また、本発明の製造方法では2度の合成吸着樹脂処理工程で十分な精製を5効果的に行うことができ、容易な操作で効率よくかつ煩雑な液分離操作もなく、高収率でLH-RH誘導体を製造することができる。

請求の範囲

1. LH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程および芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付すことを特徴とするLH-RH誘導体
5 の製造方法。

2. LH-RH誘導体が、式

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg-Pro-Z

[式中、YはDLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2NalおよびDHis(ImBzl)から選ば
れる残基を、ZはNH-C₂H₅またはGly-NH₂をそれぞれ示す]で表されるペプチドま

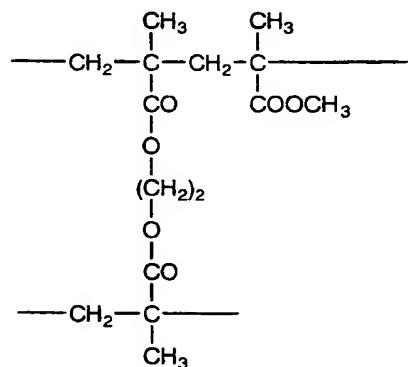
10 たはその塩である請求項1記載の製造方法。

3. LH-RH誘導体が、式

5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-DLeu-Leu-Arg-Pro-NH-C₂H₅

で表されるペプチドまたはその酢酸塩である請求項1記載の製造方法。

4. 式



15 で表される繰り返し単位を有するメタクリル系合成吸着樹脂を用いることを特
徴とする請求項1記載の製造方法。

5. 芳香族系合成吸着樹脂がスチレン-ジビニルベンゼン系合成吸着樹脂であ
る請求項1記載の製造方法。

20 6. スチレン-ジビニルベンゼン系合成吸着樹脂の平均粒径が約60μmない
し約150μmである請求項5記載の製造方法。

7. LH-RH誘導体を含有する溶液を約10°C以下でメタクリル系合成吸着樹脂処理工程に付すことを特徴とする請求項1記載の製造方法。
8. LH-RH誘導体を含有する溶液を約10°Cないし約20°Cで芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付すことを特徴とする請求項1記載の製造方法。
- 5 9. LH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程に付した後、芳香族系合成吸着樹脂処理工程に付すことを特徴とする請求項1記載の製造方法。
10. LH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程において樹脂に通液させた後、樹脂に吸着されたLH-RH誘導体を酢酸水溶液で溶出することを特徴とする請求項1記載の製造方法。
- 10 11. 酢酸水溶液の濃度が約0.01Mないし約0.50Mである請求項10記載の製造方法。
12. LH-RH誘導体を含有する溶液をメタクリル系合成吸着樹脂処理工程において樹脂に通液させた後、エタノール水溶液で洗浄し、樹脂に吸着されたLH-RH誘導体を溶出することを特徴とする請求項1記載の製造方法。
- 15 13. LH-RH誘導体を含有する溶液が保護基で保護されたLH-RH誘導体を脱保護反応に付した後、約10°C以下で中和反応に付して得られたLH-RH誘導体を含有する溶液である請求項1記載の製造方法。
14. LH-RH誘導体を含有する溶液が保護基で保護されたLH-RH誘導体を脱保護反応に付した後、約10°C以下で中和反応に付し、LH-RH誘導体を抽出した後、抽出液を25°C以下で濃縮して得られたLH-RH誘導体を含有する溶液である請求項1記載の製造方法。
- 20 15. 保護基で保護されたLH-RH誘導体が、式
5-oxo-Pro-His-Trp-Ser-Tyr-Y-Leu-Arg(X)-Pro-Z
25 [式中、Xは保護基を、YはDLeu、DAla、DTrp、DSer(tBu)、D2NalおよびDHis(ImBzl)から選ばれる残基を、ZはNH-C₂H₅またはGly-NH₂をそれぞれ示す]

で表される請求項 1 3 または 1 4 記載の製造方法。

1 6. 総類縁物質の含量が約 1 % 以下である精製リュープロレリンまたはその塩。

1 7. 5-oxo-Pro-D-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NH-CH₂-CH₃またはその

5 塩の含量が約 0. 3 % 以下である精製リュープロレリンまたはその塩。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/04277

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ C07K7/23, C07K1/22

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ C07K7/23, C07K1/14~1/22

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
BIOSIS (DIALOG)
CA (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP, 910575, A1 (TAKEDA CHEM IND LTD), 28 April, 1999 (28.04.99)	16, 17
A	& AU, 9731899, A & WO, 97/48726, A1 & JP, 10-67797, A	1-15
A	US, 3816386, A (ABBOTT LAB), 11 June, 1974 (11.06.74)	1-17
	& DE, 2331095, A & GB, 1402349, A & FR, 2189418, A & JP, 49-49962, A	
A	US, 4966851, A (UNIV OF BRIT COLUMB), 30 October, 1990 (30.10.90)	1-17
	& CA, 1283072, C & JP, 63-233787, A	

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

- * Special categories of cited documents:
- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
10 October, 2000 (10.10.00)

Date of mailing of the international search report
24 October, 2000 (24.10.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP00/04277

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. C1' C07K7/32, C07K1/22

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))
Int. C1' C07K7/32, C07K1/14~1/22

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

BIOSIS (DIALOG)

CA (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	EP, 910575, A1 (TAKEDA CHEM IND LTD) 28日. 4	16, 17
A	月. 1999 (28. 04. 99) & AU, 9731899, A& WO, 97/48726, A1&JP, 10-67797, A	1-15
A	US, 3816386, A (ABBOTT LAB) 11日. 6月. 1974 (11. 06. 74) & DE, 2331095, A&GB, 140 2349, A&FR, 2189418, A&JP, 49-4996 2, A	1-17
A	US, 4966851, A (UNIV OF BRIT COLUMB) 30日. 10 月. 1990 (30. 10. 90) & CA, 1283072, C& JP, 63-233787, A	1-17

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

10. 10. 00

国際調査報告の発送日

24.10.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

鈴木 恵理子

印

4N 8114

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

